

第 二 部

5 . 脾臓破裂により斃死した牛伝染性リンパ腫の一例

宮古家畜保健衛生所

○川畑 敦、長濱 克徳、庄野 雪菜 ほか

家畜衛生試験場

奥村 尚子

【はじめに】

牛伝染性リンパ腫 (EBL) は、*Bovine leukemia virus* (BLV) が原因ウイルスであり、B 細胞性のリンパ腫が脾臓を含め、多中心性に形成される。令和 2 年のデータでは、沖縄県での発生は、全国で 7 番目に多く、EBL に対する早急な対策が必要である。県内では、2009 年から 2019 年にかけて、病理検査を実施した 80 例の EBL の内、脾臓破裂を伴う症例は本例を含め 3 例と、脾臓破裂をきたすほどのリンパ腫細胞の増殖は非常に少ない (図 1)。

今回、管内の肉用牛繁殖農家において、脾臓破裂により斃死した牛で、EBL と鑑定した症例について、その概要を報告する。

牛伝染性リンパ腫 (EBL)

- 原因は、牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) (腫瘍原性デルタレトロウイルス) である。
- B 細胞性の悪性リンパ腫である。
- リンパ節、脾臓、心臓、泌尿生殖器、筋肉など全身にリンパ腫が形成される。
- 令和 2 年では、沖縄県で 183 頭の EBL が報告され、全国で 7 番目に多かった。
- 県内では、過去 10 年間で 80 例の EBL の内、脾臓破裂を伴う症例は本例を含め 3 例である。

図 1 牛伝染性リンパ腫 (EBL)

【発生状況】

本症例は、繁殖用黒毛和種 13 歳の雌牛である。当該牛は臨床獣医師により、令和 3 年 8 月 23 日に BLV のリアルタイム PCR 検査により、高リスク牛と判定されていた。令和 3 年 9 月上旬に食欲低下の症状を示し、同月 16 日早朝に死亡しているのを畜主が発見、宮古家保で病性鑑定のため、解剖を実施した (図 2)。

発生状況

- 症例：
繁殖用黒毛和種 13 歳の雌牛。
- BLV 検査：
令和 3 年 8 月 23 日に BLV のリアルタイム PCR 検査にて、高リスク牛と判定されていた (ウイルス量 10000 以上 高リスク牛) (ウイルス量 1 回目：333592、2 回目：264973)
- 稟告：
令和 3 年 9 月上旬に食欲低下の症状を示し、9 月 16 日早朝に死亡。本症例の外傷歴はなし。
病性鑑定のため、宮古家保で解剖。

図 2 発生状況

【材料と方法】

主要臓器とリンパ節について HE 染色の他、CD3、CD5、CD20 の免疫組織化学的染色 (IHC) にて病理学的に検索した。また、脾臓破裂考察のため、2009 年から 2019 年にかけて、病理検査を実施し、EBL と診断された症例の内、脾臓破裂を伴っていた 1 例と脾臓破裂を伴っていなかった 3 例の HE 切片についても病理学的に検索した。

【結果】

肉眼所見では、腹囲は膨満しており、腹腔には約 50 l の血様腹水と大量の血餅が認められた。脾臓は著明に腫大、漿膜面には血餅が付着していた (図 3)。脾実質には、巨大血腫が認められ、血腫辺縁には裂孔が認められた (図 4)。肺では、全葉に渡り 0.5 ~ 1 cm 程度の暗赤色腫瘤が散在し、心臓では、高度かつ不整に肥厚した右心耳壁と 1 ~ 2 cm 程度の乳白色腫瘤が多巣状性に認められ、右心耳直下の右心房壁には、3 cm 程度の乳白色充実性腫瘤が認められた。骨盤腔では、5 ~ 15 cm 程度に腫大するリンパ節が 7 個認められた。

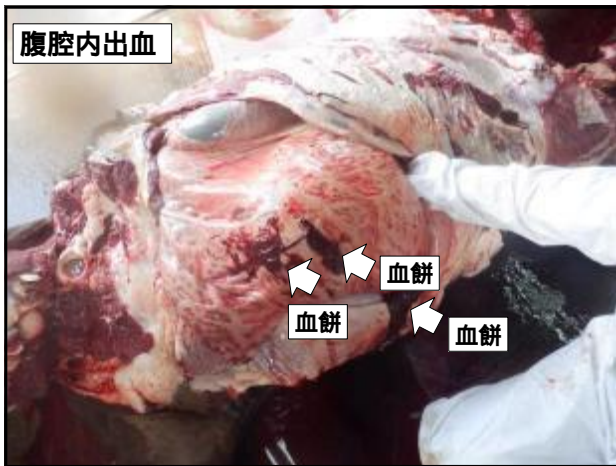


図3 肉眼所見 腹腔内出血

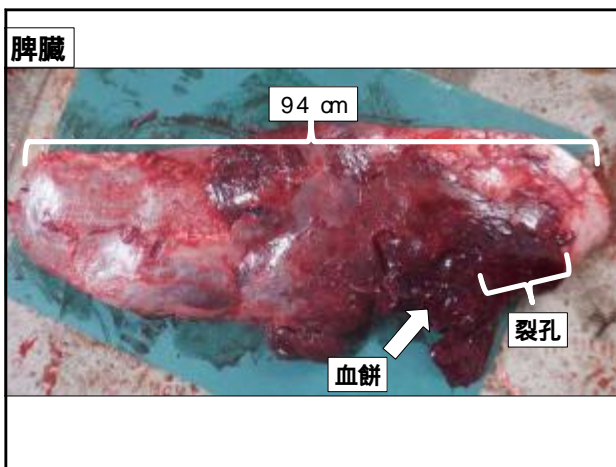


図4 肉眼所見 脾臓

病理組織学的には、脾臓の正常構造は崩壊し、小型円形腫瘍細胞が充実に増殖していた。腫瘍細胞の異型度は中程度で、分裂像はほとんど認められず、強拡大で0～2個であった(図5)。



図5 脾臓の腫瘍細胞の所見

また、特徴的所見としては、腫瘍細胞が脾柱へと浸潤し、壊死する像が多数見られたことであった(図6)。



図6 腫瘍細胞の脾柱への浸潤と壊死

脾臓被膜破綻部位では、被膜は完全に消失し、腫瘍細胞や赤血球、細胞デブリ、血漿などが被膜外へと漏出していった(図7)。

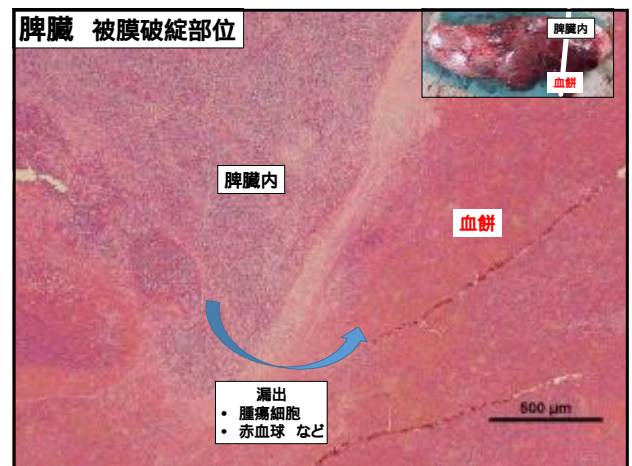


図7 脾臓被膜破綻部位

肉眼的著変のあった他臓器の病理組織学的所見は、図8示すとおりであった。本症例の病理組織学的所見をまとめると、多中心性の小型円形細胞の増殖であることから、悪性リンパ腫と診断された。

病理組織学的所見まとめ	
臓器	組織所見
脾臓	白脾髄の消失、多量の赤血球と共に小型円形腫瘍細胞の多量浸潤、脾柱内への腫瘍細胞浸潤・壊死
肺	肺胞壁の壊死、毛細血管内の多量の腫瘍細胞浸潤、肺胞腔内への腫瘍細胞浸潤
心臓	心筋細胞の断裂を伴う筋束間結合組織への腫瘍細胞浸潤
骨盤腔リンパ節	既存のリンパ節組織の崩壊、腫瘍細胞の増殖

- 病理組織学的所見：多中心性の小型円形細胞の増殖
- 病理組織学的診断名：悪性リンパ腫

BLVとの関連性証明のため
免疫組織化学的に検索 (CD3, CD5, CD20)

図 8 病理組織学的所見まとめ

IHC では CD3 は陰性、CD5、CD20 が陽性であることから、腫瘍細胞は B 細胞由来であるため、最終的に EBL と診断された (図 9)。

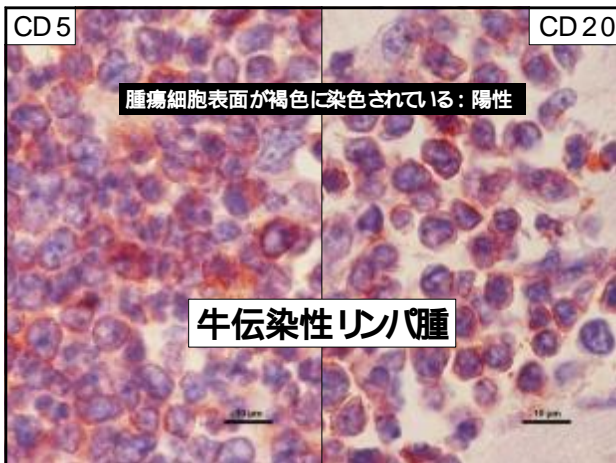


図 9 IHC

脾臓破裂となった原因を検討するため、脾臓破裂する EBL と脾臓破裂のない EBL の組織学的な違いについて、脾柱への腫瘍細胞浸潤と壊死に着目して検索した。

まず、EBL 症例における脾柱への腫瘍細胞浸潤・壊死の比較をした。方法は、1 症例 3 切片を選び、それぞれの切片で 10 個の脾柱をランダムに選択して壊死している脾柱をカウントし、3 切片の平均を算出して比較した。10 脾柱当たりの脾柱壊死数は、脾臓破裂 EBL 症例では、脾柱壊死が有意に増加していた (図 10)。

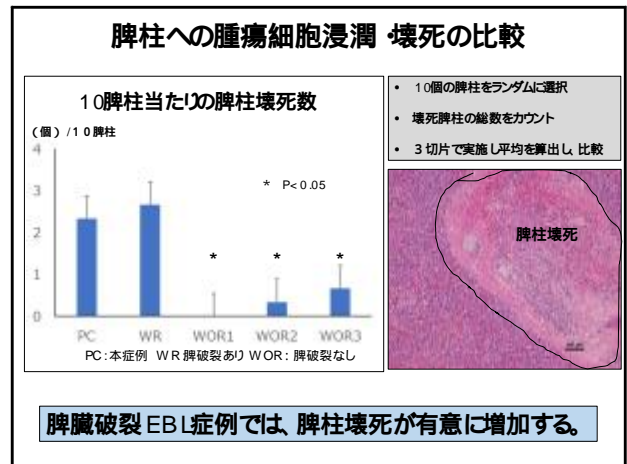


図 10 脾柱への腫瘍細胞浸潤・壊死の比較

脾柱が壊死すると、組織上からは消失していくことになると考えられるため、次に EBL 症例における組織上での脾柱数の比較をした。1 症例 3 切片を選び 100 倍で 10 視野をランダムに選択、その中の脾柱の数をカウントし、3 切片の平均を算出して比較した。100 倍 10 視野当たりの脾柱数は、脾臓破裂 EBL 症例では、脾柱数が有意に減少していた (図 11)。

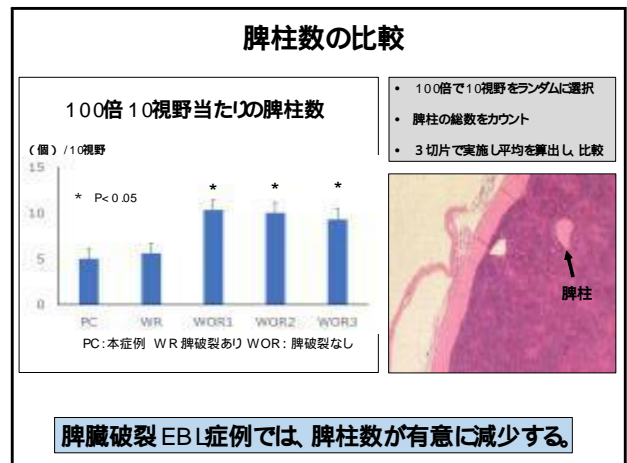


図 11 脾柱数の比較

【考察】

EBL 症例で脾臓破裂を伴うものは、単純な腫瘍細胞の増殖によるものだけでなく、脾柱内に腫瘍細胞が浸潤して壊死をきたし、内部骨格の崩壊も重要な要因であることが示唆された (図 12)。

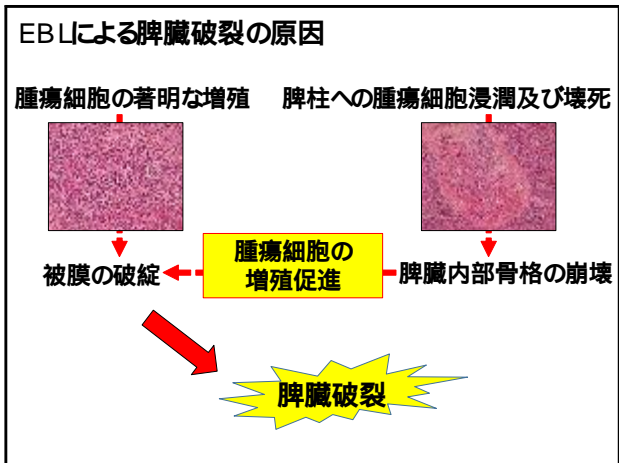


図 12 考察

6.黒毛和種繁殖農場で発生した牛ボツリヌス症

中央家畜保健衛生所

青木 雄也 荒木 美穂

岩垣 つぐみ

家畜衛生試験場

中尾 聡子

ボツリヌス症はボツリヌス菌が産生するボツリヌス毒素により引き起こされる疾病である。A型～G型に分類される毒素を産生し、弛緩性の麻痺を引き起こします。症状は起立不能、腹式呼吸、呼吸困難等を示し、致死率が高い。国内での発生は散発的であり、牛ではC型およびD型毒素による発生が多い。

ボツリヌス症



- ・グラム陽性偏性嫌気性桿菌のボツリヌス菌 (*Clostridium botulinum*)
- ・ボツリヌス毒素(A型～G型)を産生し弛緩性の麻痺を引き起こす
- ・症状は起立不能、呼吸困難等で致死率が高い
- ・牛での発生は散発的でC型、D型の発生が多い

(図1)

発生地域は牛農場が9戸3200頭規模の離島で、発生農場は母牛16頭、子牛10頭を飼養する農場である。飼料は粗飼料、濃厚飼料ともに購入飼料だった。飲水は天水を利用しており消毒はされていなかった。牛舎には防鳥ネットが設置されておらず野鳥が出入り出来る状態だった。畜主は最近牛舎内でカラスがを多く見かけ、カラスの糞便も多いとの事だった。(図2)

農場概要

地域

牛農家97戸 3200頭の離島

農場概要

黒毛和種繁殖農場

母牛16頭 子牛10頭

飼養管理

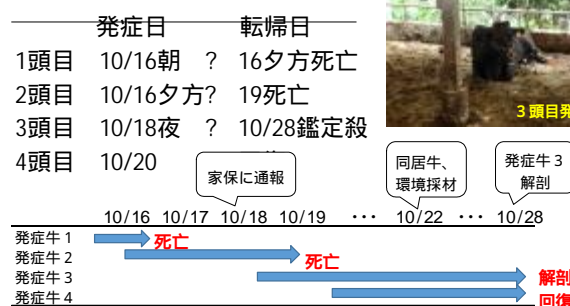
- ・粗飼料、濃厚飼料は購入
- ・飲水は天水(未消毒)
- ・防鳥ネット未設置
- ・カラスが多い



(図2)

令和3年10月16日朝3歳の経産牛が倒れているとの稟告で臨床獣医師に往診依頼があった。食欲・活力低下、起立不能、平行失調、露舌、口唇浮腫、流涎等の症状を示し、夕方死亡した。同日夕方、同じ牛房で、もう1頭流涎の症状がみられ、翌日夕方起立不能、など同様な症状を示し19日に死亡した。18日および20日にも新たな発症がみられた。18日に臨床獣医師より家保にボツリヌス症を疑う通報があり、22日に同居牛や環境材料を採材し、28日に予後不良となった3頭目の鑑定殺を実施した。(図3)

発生概要



(図3)

一般検査の材料と方法です。血液検査は発症牛および同居牛のEDTA血、血清を用いて、血球計算機、スポットケムで各種血清生化学検査を実施。病理組織

検査は定法に従い、解剖、ホルマリン固定後組織検査を実施。細菌検査は腫瘍6臓器を用いて、血液寒天培地で好気および嫌気培養を実施。(図4)

材料と方法 (一般検査)

・血液検査

材料 EDTA血、血清

方法 血球計算機、スポットケム

・病理組織検査

定法に従い解剖、組織検査

・細菌検査

主要6臓器

血液寒天培地 好気/嫌気
(図4)

血液検査結果です。血液生化学検査では全体的にAST・GGTがやや高く、ALB、BUNが低値だった。発症牛3についてはASTが高値でしたが、4日間起立不能だったため、筋肉からASTが逸脱したものと考えられた。グルコース、カルシウムも高値でしたが治療によるものと推察された。(図5)

血液検査結果

血液生化学検査

全体的 AST、GGTやや高値 ALB、BUNの低値
発症牛3 AST、Glu、Ca高値

年齢	Glu (mg/dl)	T Olo (mg/dl)	AST(GGT) (IU/L)	GGT (IU/L)	LDH (IU/L)	T Pro (g/dl)	Alb (g/dl)	BUN (mg/dl)	Ca (mg/dl)	
発症牛2	NT	82	51	46	1230	7.5	3.7	13	10.3	
発症牛3	95	92	493	53	2000<	10.9	4.0	9	18.7	
発症牛4	14	54	127	70	1263	8.5	3.8	12	10.1	
同居牛	3	41	72	67	1180	8.9	2.9	8	11.2	
同居牛	8	55	95	46	1106	7.8	3.0	5	10.0	
同居牛	4	38	74	94	27	1483	6.9	3.2	7	10.8
同居牛	6	45	88	41	32	926	7.4	3.4	<5	9.9
同居牛	8	44	98	93	38	1175	8.1	3.2	5	9.7
同居牛	11	33	93	58	72	1152	7.8	2.9	<5	9.3
正常値	正常値	46-75	71-140*	45-84*	12-32*	1500-2500	6.6-7.6	3.2-3.9	10-20	8.5-12.0

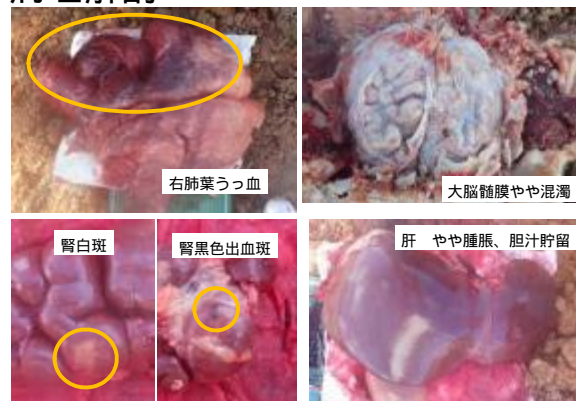
細菌

細菌

(図5)

病理解剖所見です。右肺のうっ血、大脳髄膜やや混濁、腎臓で白斑、黒色出血斑がみられ、肝臓はやや腫脹して、胆汁貯留がみられた。(図6)

病理解剖

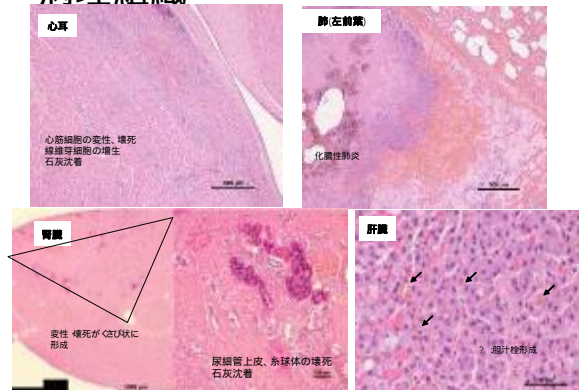


(図6)

病理組織です。心臓で壊死性小動脈炎、心筋変性及び壊死、石灰沈着。肺全葉に水腫及び出血(全葉)、前葉後部でグラム陰性菌を伴う化膿性気管支肺炎。腎で皮質を中心にくさび状に尿細管上皮の変性、壊死、糸球体上皮の壊死肝臓で胆汁栓形成がみられた。その他、膀胱粘膜下の水腫及び出血、脳幹部神経細胞への黄褐色色素沈着、第一胃の壊死性小動脈炎がみられた。(図7)

一般的にボツリヌス症では特異的な病変は無いとされていますが、多くの病変が見られたのは解剖牛は発症から解剖まで時間を要したためと思われる。

病理組織



(図7)

ボツリヌス検査の材料と方法です。材料は発症牛の直腸便、胃腸内容物、同居牛の直腸便、カラスの糞便、乾草、飲水とした。

分離培養は強化クッドミート培地で2~7日間増菌培養した後、卵黄加シス테인強化GAM寒天培地で嫌気培養を実施。疑われるコロニーについて生化学性状検査、毒素型別遺伝子検査を実施。

ボツリヌス毒素検査は発症牛の血清及び検体処理液、処理培養液を用いた。培養液はフィルター濾過

後、ゼラチン希釈液で5倍希釈しマウス腹腔内に0.5ml接種した。腹式呼吸、後躯麻痺などの特徴的な症状の発現と致死を確認されたものを陽性とした。陽性検体は中和試験を実施。抗毒素血清を30分間中和させた後0.5mlをマウス腹腔内接種し、死亡しない抗血清から毒素型を判定した。

毒素型別遺伝子検査は分離培養液500μlを遠心後、沈渣からDNAを抽出し、C型、D型、C/D型、D/C型の毒素型別遺伝子検査を実施。陽性のみられたプライマーセットの組み合わせにより毒素型を判定した。(図8)

材料と方法 (ボツリヌス検査)

材料：発症牛の直腸便、胃腸内容物、同居牛の直腸便、カラスの糞便、乾草、飲水

方法：

分離培養

増菌培養：強化クックドミート培地で2~7日間増菌

分離培養：卵黄加システイン強化GAM寒天培地で嫌気培養

同定：生化学性状検査、毒素型別遺伝子検査

毒素検査

マウス接種法：マウス腹腔内に0.5ml接種

中和試験：抗C、抗D型毒素血清で中和後マウス接種

毒素型別遺伝子検査

C型、D型、C/D型、D/C型 型別PCR

(図8)

分離培養の結果です。ボツリヌス菌分離培養検査結果は全て陰性だった。ボツリヌス毒素検査結果はカラスの糞便、発症牛の直腸便、第一胃内容物の増菌培養液で陽性を示した。

毒素陽性検体について中和試験実施し、すべての検体でD型毒素と判定された。

カラスの糞便でD型およびC型毒素陽性と判定されました。

ボツリヌス毒素はD型毒素の一部がC型と置き換わりD/Cモザイク型が存在する事が知られており、本事例もD/Cモザイク型毒素と推察された。(図9)

結果 分離培養、毒素検査

分離培養 全て陰性

ボツリヌス毒素検査、中和試験

カラスの糞便、発症牛の直腸便と第一胃内容物、でD型毒素陽性



腰麻痺を呈したマウス

毒素検査 (検体上清)	発症牛 消化管内内容物						
	カラス糞便	カラス糞便	直腸	第一胃	第四胃	小腸	結腸
	-	-	-	-	-	-	-
毒素検査 (非加熱培養液)	+ C, D型	-	+ D型	+ D型	-	-	-
毒素検査 (加熱培養液)	+ D型	+	+	+	NT	NT	NT

(図9)

ボツリヌス毒素の遺伝子検査の結果です。

カラスの糞便、同居牛の直腸便、発症牛の検体でD9F/C26RおよびC12F/C23Rの両プライマーセットで陽性を確認、この組み合わせからD/Cモザイク陽性と判

結果 ボツリヌス毒素の遺伝子検査

primer F/R	発症牛 消化管内内容物						
	カラス糞便	同居牛直腸便	直腸	第一胃	第四胃	小腸	結腸
C5F/C26R	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -
D9F/C26R	+ / +	+ / -	+ / -	+ / +	- / -	- / +	- / +
C12F/C23R	+ / +	+ / -	+ / -	+ / +	- / -	- / +	- / +
C12F/D15R	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -	- / -

* 結果は増菌培養前の検体の非加熱 / 加熱

primer F/R	C型	D型	C/Dモザイク	D/Cモザイク
C5F/C26R	+ 800bp	-	+ 800bp	-
D9F/C26R	-	+ 884bp	-	+ 884bp
C12F/C23R	+ 816bp	-	-	+ 816bp
C12F/D15R	-	+ 713bp	+ 713bp	-

(図10)

ボツリヌス毒素検査でマウスが特徴的な症状を示し死亡したためボツリヌス毒素検査陽性と判明した。中和試験によりボツリヌス毒素はD型と判明した。毒素型別遺伝子検査によりD/Cモザイク型と判明した。これらの事より、D/Cモザイク型毒素によるボツリヌス症と診断した。畜舎内にはカラスの糞便が多く見られ、カラス糞便培養液からもD/Cモザイク型ボツリヌス毒素(D/Cモザイク型)を検出したことからカラスが感染経路の原因の一つと推察された。発生予防のためにワクチン接種や野鳥対策が重要であると考えられる。

7.肉用牛繁殖農場におけるヨーネ病スクリーニング遺伝子検査の活用

家畜衛生試験場

中尾聡子 奥村尚子 渡嘉敷美波

北部家畜保健衛生所

新田芳樹 宮良あゆみ

【はじめに】ヨーネ病はヨーネ菌の感染によって引き起こされる、牛、山羊、羊等の反芻動物の肉芽腫性腸炎で、病気の経過が極めて長く、感染から発症までに1~数年の潜伏期間がある。発症牛は持続性の下痢、泌乳量の低下、空胎期間延長、栄養状態の悪化による消瘦等を起こし、やがて死に至る。また感染牛は発症するまでの無症状時期においても糞便中にヨーネ菌を排菌することがある。ヨーネ病発生農場における清浄化対策は定期的な牛群検査による感染牛の摘発淘汰を中心に行われており、ELISA法による抗体検査が用いられる。しかし抗体陰性排菌牛が摘発されずに農場汚染を拡大することが懸念されることから、スクリーニング遺伝子検査法が開発され、販売されている[1,2]。沖縄県では2012年12月にリアルタイムPCR法がヨーネ病診断薬に承認されて以降、2013年と2014年に乳用牛で2頭の患畜が摘発されている。しかし2019年以降は肉用牛で9頭の患畜が摘発されており、肉用牛繁殖農場におけるヨーネ病対策が課題となっている(図1)。そこでヨーネ病発生農場の早期清浄化を目的として、現行の抗体検査に加えてスクリーニング遺伝子検査を活用した2事例について報告する。

年に立入検査を実施したところ、当該牛とその産子2頭が患畜と診断された。事例2:飼養頭数115頭の肉用牛繁殖農場で、2021年に食肉衛生検査所よりヨーネ病の届出があり、出荷元農場の疫学関連農場として立入検査を実施したところ、繁殖雌牛7頭が患畜と診断された。事例1,2で摘発された患畜の月齢は0~135ヶ月齢まで様々であり、外貌所見や剖検所見ではヨーネ病を疑うような特徴的所見は見られなかったが、抗体検査、遺伝子検査、病理組織学的検査からヨーネ病と診断された(図2)。

事例No.	月齢	外貌所見		剖検所見		抗体検査		遺伝子検査		病理組織学的検査		
		削度	下痢	腸粘膜	腸間膜リンパ節	ELISA	公定法	スクリーニング	肉芽腫性腸炎	肉芽腫性リンパ節炎	抗酸菌染色	
事例1-1	26	なし	なし	軽度肥厚	腫脹	1.06	45.99	陽性	+	+	+	
事例1-2	0	なし	なし	異常なし	異常なし	0.98	0.0089	陽性	-	-	+	
事例2-1	66	なし	なし	異常なし	異常なし	0.96	5.9205	陽性	+	+	+	
事例2-2	105	なし	なし	異常なし	異常なし	1.04	1.3085	陽性	+	+	+	
事例2-3	98	なし	なし	軽度肥厚	異常なし	0.41	0.0012	陽性	+	+	+	
事例2-4	108	軽度	なし	異常なし	軽度腫脹	0.45	0.0073	陽性	-	+	+	
事例2-5	135	なし	なし	軽度肥厚	異常なし	0.49	0.0015	陽性	+	-	+	
事例2-6	80	なし	なし	異常なし	異常なし	0.89	0.0036	陽性	+	+	+	
事例2-7	33	なし	なし	異常なし	異常なし	0.60	0.0093	陽性	+	+	+	

図2 ヨーネ病患者の検査成績まとめ

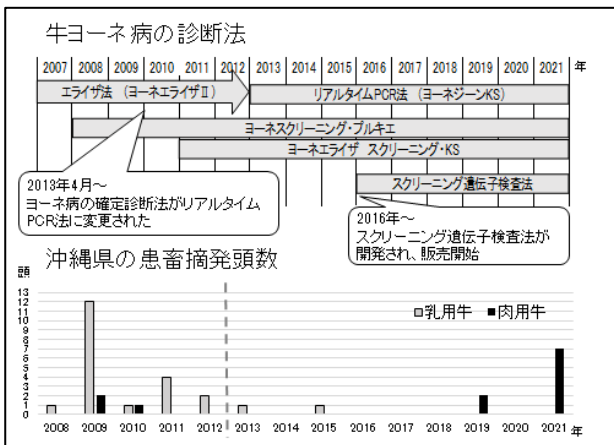


図1 牛ヨーネ病診断法と患畜摘発頭数

【発生概要】事例1:飼養頭数186頭の肉用牛繁殖農場で、県外家畜市場から導入した繁殖雌牛がヨーネ病患畜の産子であると情報提供を受けたため、2019

【材料と方法】事例1:農場全頭検査は農場飼育牛190頭を牛房ごとに2~10頭プールした28検体についてスクリーニング遺伝子検査を実施した。陽性となった検体については個別に遺伝子を抽出して再検査を実施した。環境拭き取り検査は牛床、ウォーターカップ、餌槽、通路について99検体採材し、牛房ごとに2~8ヶ所プールした28検体についてスクリーニング遺伝子検査を実施した。その後、定期的な抗体検査に加えて分娩した母牛のスクリーニング遺伝子検査を8回66頭実施した。事例2:農場全頭検査は患畜7頭を含む115頭について個別に遺伝子を抽出してスクリーニング遺伝子検査を実施した。陽性検体については検体の増幅曲線から得られたCt値と弱陽性コントロールのCt値を比較して遺伝子量を推察した。同居牛の追跡検査として6ヶ月齢以上の抗体陰性牛について、7月

は 85 頭、11 月は 87 頭のスクリーニング遺伝子検査を実施した。環境拭き取り検査は牛床、壁やスタンション、飼槽、ウォーターカップ、通路、トラックやトラクタータイヤについて、3 月は 36 検体、6 月は 36 検体、翌年 2 月は 40 検体採材し、全て個別に遺伝子を抽出してスクリーニング遺伝子検査を実施した。

【結果】事例 1 :190 頭をプールした材料 28 検体を用いたスクリーニング遺伝子検査の結果、9 検体が陽性、19 検体が陰性だった。プール材料で陽性となった検体について個別で検査した結果、21 頭が陽性（陽性率 11.1%）だった。プール材料で陽性となった 9 検体中 4 検体は個別で検査した結果全て陰性だった。環境拭き取り検査ではプールした 28 検体中 21 検体が陽性であり、全ての牛舎で陽性が確認された。分娩した母牛のスクリーニング遺伝子検査は 66 頭全て陰性だった。事例 2 :立入検査時は 115 頭中 61 頭が陽性（陽性率 53.0%）であり、患畜 7 頭は全て陽性だった。陽性牛 61 頭のうち弱陽性コントロールより Ct 値が低い牛は 8 頭であり、そのうち 5 頭が患畜だった。6 ヶ月齢以上の抗体陰性牛のスクリーニング遺伝子検査の結果、7 月は 85 頭中 8 頭が陽性（陽性率 9.4%）、11 月は 87 頭中 9 頭が陽性（陽性率 10.3%）だった。陽性母牛の追跡検査の結果、7 月は陽性牛 25 頭中 20 頭が陰性となり、11 月は陽性牛 25 頭中 22 頭が陰性となったが、中には陽転する牛や複数回にわたり陽性となる牛が見られた。環境拭き取り検査は 3 月に 36 検体中 17 検体が陽性だった。それぞれの陽性率は牛床 75% (6/8 ケ所)、壁やスタンション 63% (5/8 ケ所)、飼槽 25% (2/8 ケ所)、ウォーターカップ 0% (0/7 ケ所)、通路 100% (3/3 ケ所)、タイヤ 50% (1/2 ケ所) だった。3 ヶ月後に再検査を実施した結果、全て陰性だった。しかし翌年 2 月に実施した結果、40 検体中 2 検体が陽性であり、その内訳は陽性牛隔離牛舎の牛床と草地トラクターのタイヤだった。

【まとめと考察】事例 1 では患畜摘発後のスクリーニング遺伝子検査で畜舎環境から広くヨーネ菌が検出されたため、徹底した畜舎消毒を実施した。その後の検査で患畜は摘発されず、スクリーニング遺伝子検査も全て陰性だった。事例 2 では患畜摘発時のスクリーニング遺伝子検査で半数以上の牛がヨーネ菌遺伝子陽性だったが、畜舎消毒を徹底した後の再検査では陽性牛の多くが陰転した。この結果から患畜摘発時は畜舎環境が広くヨーネ菌に汚染されているため、スクリーニ

ング遺伝子検査では通過菌を検出した可能性があると考えられた。しかし陰性牛群の中には陽転する母牛が見られたため、ヨーネ病発生農場では長期的なまん延防止対策が必要であると考えられた。スクリーニング遺伝子検査は検体をプールして検出可能だが、プール材料は個々のヨーネ菌を集約して検出するため、個別で検査すると全て陰性になることがあった（図 3）。環境材料などは検体をプールすることでヨーネ菌遺伝子を高感度に検出可能となるが、同居牛検査では陽性牛を特定する必要があるため、事例 2 のような高度汚染農場では検体をプールせず個別に検査の方が効率的であると考えられた。スクリーニング遺伝子検査の判定方法は融解曲線解析で見られる解離温度で判定するが、多くの陽性検体が IC ピークと陽性ピークの両方を認め 2 峰性の曲線となるため、陽性検体が多い場合は検査結果を画像で示すのが困難だった。そこで解離曲線解析で陽性と判定した検体について、蛍光増幅曲線の立ち上がり画像を表示することで陽性検体のイメージが伝わりやすくなった（図 4）。スクリーニング遺伝子検査は PCR 阻害物質等の影響による偽陰性を避けるためにインターナルコントロールを含んでおり、ヨーネ菌遺伝子の定量はできない。しかし事例 2 で摘発された患畜 7 頭のヨーネ菌遺伝子量とスクリーニング遺伝子検査の Ct 値に相関性が見られたため、陽性検体の Ct 値からヨーネ菌遺伝子量を推定することができた。判定方法は弱陽性コントロールの Ct 値を基準として、Ct 値が低い検体を陽性（++）、Ct 値が高い検体を陽性（+）と表示した。事例 2 では陽性 61 頭中 8 頭が陽性（++）であり、患畜 7 頭中 5 頭が陽性（++）だったことから、陽性（++）の牛は特に排菌量が多いと推察された（図 5）。ヨーネ病は発生から清浄化するまでに長期的な対策が必要であり、定期的な抗体検査では摘発されない抗体陰性排菌牛が農場清浄化を遅らせることが問題となっている。そこで患畜摘発後に同居牛や環境拭き取り材料のスクリーニング遺伝子検査を行い農場の汚染状況を把握し、無症状の排菌牛を早期摘発することで本手法は農場清浄化対策に活用できると考えられた（図 6）。

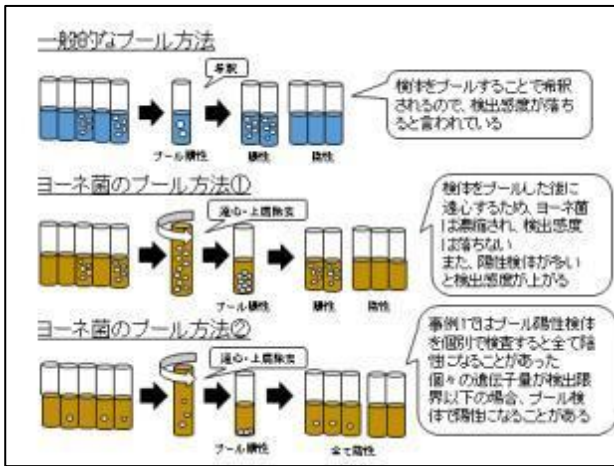


図3 プール検体の検査方法

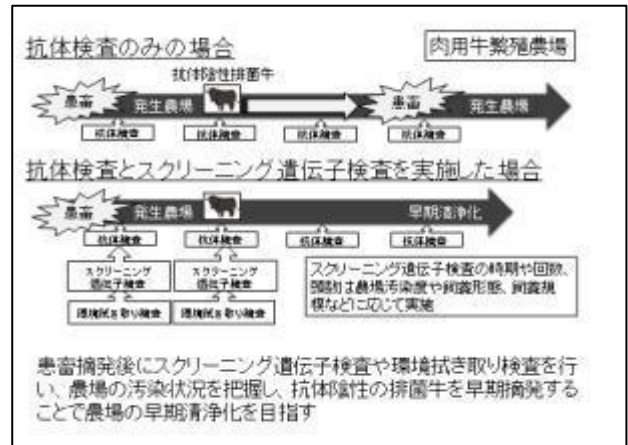


図6 発生農場におけるスクリーニング遺伝子検査の活用方法

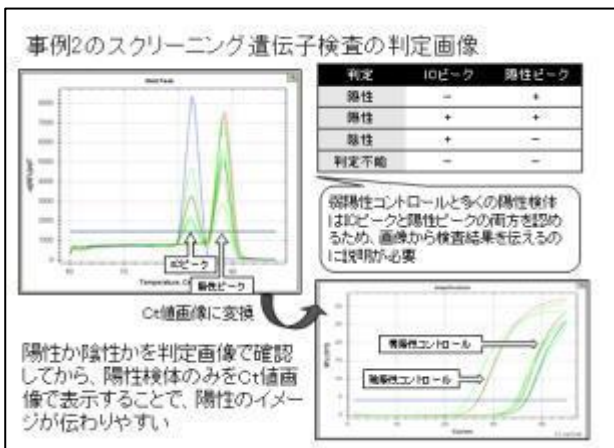


図4 スクリーニング遺伝子検査の解析方法

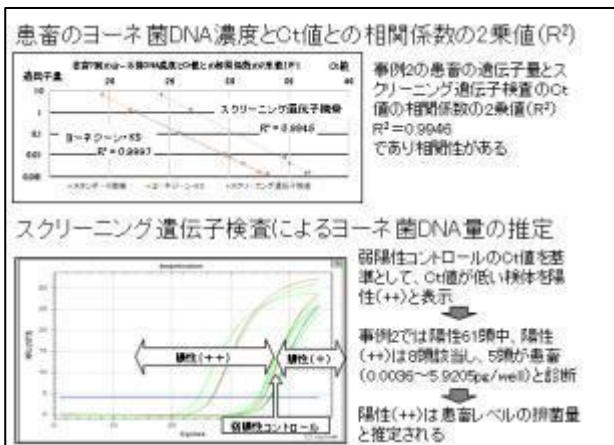


図5 スクリーニング遺伝子検査の解析方法

引用文献】

- [1] 永田礼子,令和2年度臨床獣医師防疫対策強化事業 特定疾病等に関する防疫技術研修,牛のヨーネ病の病性と診断,2020
- [2] SATOKO Kawaji et al, A Novel Real-Time PCR-Based Screening Test with Pooled Fecal Samples for Bovine Johne's Disease, Journal of Clinical Microbiology, 58(12), 2020

8. 沖縄県のヨーネ病症例における病理学的解析

家畜衛生試験場

奥村尚子 中尾聡子

北部家畜保健衛生所

宮良あゆみ 新田芳樹

【背景と目的】ヨーネ病はヨーネ菌 (*Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*) (以下 MAP) により引き起こされる牛や山羊など反芻獣の慢性疾病である。経口的に摂取された MAP が回腸パイエル板 M 細胞から侵入し感染する。MAP はマクロファージにより貪食され、回腸パイエル板やリンパ節に初期の小肉芽腫病巣を形成した後、宿主細胞性免疫の誘起により治癒する場合と長い潜伏期間に入る場合がある。潜伏期間は 2~5 年とされ、2 歳以下での発症は稀である。発症に至る要因として、宿主免疫応答機能の低下や栄養状態の悪化、妊娠・分娩に伴う内分泌系の変化、ストレスなどが挙げられている [1]。潜伏期間中も MAP はマクロファージ内で増殖を続け、糞便中へ排菌が認められる。

沖縄県の肉用牛農場において、2019 年 (事例) と 2021 年 (事例) に計 9 頭のヨーネ病患者が摘発された。ヨーネ病は、病理組織学的に肉芽腫性腸炎に分類され、浸潤マクロファージの病変部局在や種類により大まかに病態の進行度を推察することができ、糞便中菌量と病理組織病変との相関も報告されている [2]。本県症例を病理組織学的に解析し、糞便中菌量と比較したので概要を報告する。

【事例概要】事例 : 2017 年に県外家畜市場より沖縄県内へ導入した母牛について、2019 年にヨーネ病患者の産子であったと情報提供があった。当該母牛は導入後出産歴があり、ヨーネ病検査を実施した結果、母牛と子牛の 2 頭が患者となった。事例 : 2021 年に沖縄県内の食肉衛生検査所よりヨーネ病の届出があり、疫学関連農場についてヨーネ病検査を実施した結果、7 頭が患者となった。

【材料と方法】2 農場のヨーネ病患者 9 頭の指定採材部 (空腸、回腸 (回盲部から 1m、50cm、30cm、10cm)、結腸、空腸リンパ節、回腸リンパ節、回盲リンパ節、乳房上 (浅鼠径) リンパ節、その他心臓や肺、肝臓、脾臓、腎臓を用いて、ヘマトキシリンエオジン染色 (HE 染色) 抗酸菌染色 (Ziehl-Neelsen 染色) を実施し、鏡検

した。ヨーネ病検査として、糞便を用いたリアルタイム PCR 検査 (ヨーネジーン・KS) 血清を用いたエライザ検査 (牛ヨーネ病診断用エライザキット) を実施した。

回盲部の組織病変について、既報 [2] では以下の 4 種に分類し、糞便中菌量との関連が報告されている。L 型 (類上皮細胞が粘膜固有層から下組織まで広く浸潤し多核細胞やラングハンス型細胞は稀である)、T 型 (多核細胞やラングハンス型細胞の浸潤があり類上皮細胞の形成は稀である)、T/L 型 (L と T 型の両方の特徴が認められる)、N 型 (類上皮細胞が粘膜固有層から下組織まで広く浸潤し多核細胞やラングハンス型細胞は稀である) の順に糞便中菌量が多い。L 型は、類上皮細胞が粘膜固有層から下組織まで広く浸潤し多核細胞やラングハンス型細胞は稀である。T 型は、多核細胞やラングハンス型細胞の浸潤があり類上皮細胞の形成は稀である。T/L 型は、L と T 型の両方の特徴が認められる。患者 9 頭の回腸病変を病理組織検査の結果に基づき、既報の 4 種の病型に分類し、糞便中菌量と比較した。

【結果】全例重度の消瘦や下痢は認められず、解剖時回腸粘膜の軽度肥厚が認められたのは 9 例中 2 例のみだった (図 1)。抗体検査は全例陽性、糞便中菌量は全例定量陽性だった (図 2)。

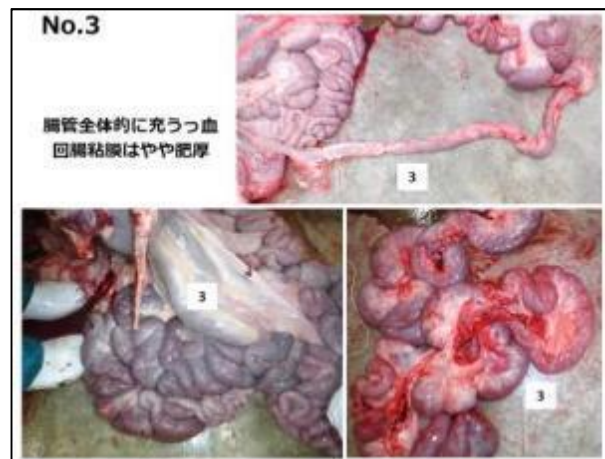


図 1 No.3 腸管

検体 No.	月齢	用途	肉付	胎子	下痢の有無	抗体検査 ELISA法 (陽性 ≥ 0.3)	リファイン(PCR) pg/2.5 μ L (定量陽性 ≥ 0.001)
1	26	繁殖	普通	無	無	1.06	45.99
2	11 日前	子牛	普通			0.98	0.0089
3	66	繁殖	普通	無		0.96	5.9205
4	105	繁殖	普通	無		1.04	1.3085
5	98	繁殖	やや肥満	無		0.41	0.0012
6	108	繁殖	やや肥満 活気なし	無		0.45	0.0073
7	135	経産 肥育	普通	無		0.49	0.0015
8	80	経産 肥育	やや肥満	有		0.89	0.0036
9	33	経産 肥育	やや肥満	有		0.6	0.0093

・全頭下痢や重度消瘦の症状なし

図2 ヨーネ病検査の結果

病理組織検査では、主に肉芽腫性腸炎、肉芽腫性リンパ管炎がみられ、病変部の抗酸菌染色では、類上皮細胞やランゲハンス型細胞、マクロファージの細胞内に濃赤色の菌体が多数みられた(図3,4,5) 腸管膜リンパ節では9例中7例で病変形成されていたが、乳房上リンパ節では全例病変はみられなかった。肝臓を採材した7例中4例について小肉芽腫巣が認められた。回腸の病理組織検査結果から病変を分類した結果、L型は該当なし、T/Lが5例(No.1,3,4,8,9)、T型が2例(No.5,7)、N型が2例(No.2,6)だった(図6,7) T/L型5例のうち、No.1,3,4は他の2例より病変が重度だった。N型に分類されたNo.6はリンパ節には病変が認められた。それぞれの病型における糞便中菌量はT/L型が0.0036~45.99pg/2.5 μ L(平均10.646pg/2.5 μ L)、T型が0.0012~0.0015pg/2.5 μ L(平均0.0014pg/2.5 μ L)、無病変型が0.0073~0.0089pg/2.5 μ L(平均0.0081pg/2.5 μ L)であった(図8)

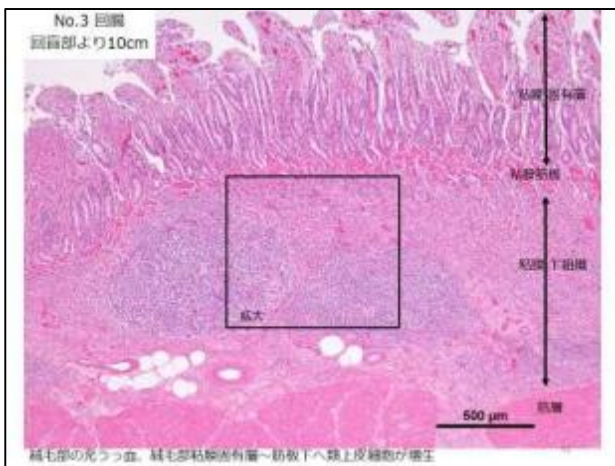


図3 No.3 回腸 (HE染色)

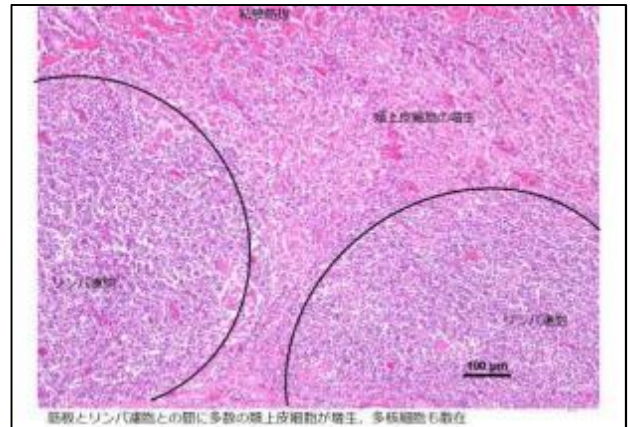


図4 No.3回腸 粘膜下組織 (HE染色)

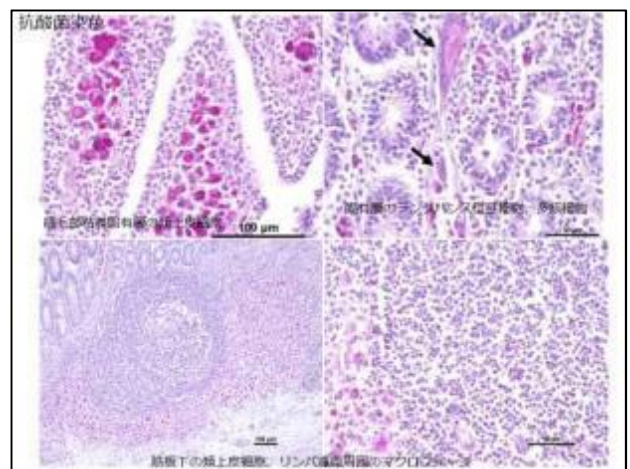


図5 No.3回腸 (抗酸菌染色)

病位	絨毛部 粘膜固有層	粘膜下組織 (筋板下)	バイエル根、 その周囲	リンパ(管内、管周囲) (下組織~絨毛~腸管)
炎症細胞	類上皮細胞、ランゲハンス型細胞、多核細胞	類上皮細胞、ランゲハンス型細胞、多核細胞	ランゲハンス型細胞、多核細胞、マクロファージ	ランゲハンス型細胞、多核細胞、マクロファージ、リンパ(管)
1	+	+	+	+
2	-	-	-	-
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	-	-	-	+
6	-	-	-	-
7	-	中空腸には病変あり	-	-
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+

・ No.1,3,4 類上皮細胞が固有層から下組織まで浸透 No.8,9 類上皮細胞が絨毛部のみ
・ No.2,5,6,7 類上皮細胞形成なし (No.5と7はランゲハンス型細胞あり)

図6 回腸 病理組織検査結果

No.	回腸 病理所見			病型	CFU/2.5μL (pg/2.5μL)
	病変形成	ランゲルハンス細胞, 多核細胞	類上皮細胞		
1	+	+	+	T/L型	45.99
2	-	-	-	N型	0.0089
3	+	+	+	T/L型	5.9205
4	+	+	+	T/L型	1.3085
5	+	+	-	T型	0.0012
6	-	-	-	N型	0.0073
7	+	※空腸	-	T型	0.0015
8	+	+	+	T/L型	0.0036
9	+	+	+	T/L型	0.0093

図7 病型分類

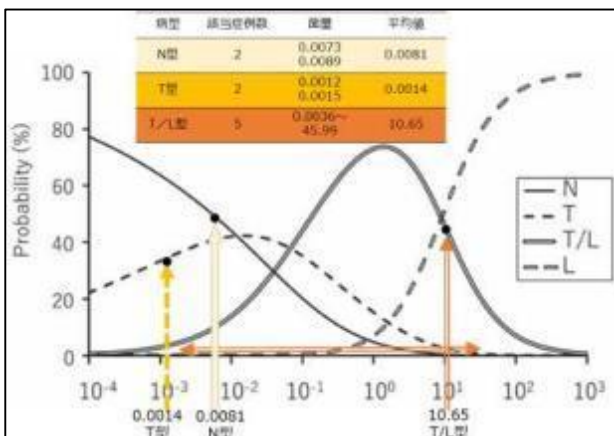


図8 病型と糞便中菌量との比較
(谷口らの原図に追記)

【まとめと考察】患畜 9頭は間欠性や持続性の水様性下痢や削瘦など臨床症状がなく、解剖時の所見に乏しかったため、発症前の潜伏期間中の個体と推察された。回盲部の病理組織検査結果による病型分類と糞便中菌量との関連は T/L型 5例の菌量平均は約 10.6pg/2.5μLで既報 [2]では約 50%の発生率であり T型 2例の菌量平均は約 0.0014 pg/2.5μLで約 30%の発生率、N型 2例の菌量平均は約 0.008 pg/2.5μLで約 50%の発生率であり 全ての病型で既報 [2]範囲内であった。潜伏期間中の個体では、ヨネネ病の典型的なわらし状の腸管粘膜肥厚を伴う病変は必ずしも認められず、病態進行度は無病変型から混合型まで、個体により様々と考えられた。

病理組織検査にて回腸には病変がない一方、リンパ節や空腸に病変がみられる場合があり 指定部位を採材することの重要性を感じた。混合型に分類した2症例 (No.1と3)は、漿膜面のリンパ管炎が顕著にみられたため、解剖時に粘膜面のみならず、漿膜面側の病変も着目していきたい。ヨネネ病患者であっても肉眼的に明瞭な腸管病変を伴わない可能性に留意する必要がある。

【引用文献】

[1] 永田礼子 :令和 2年度臨床獣医師防疫対策強化事業 特定疾病等に関する防疫技術研修 牛のヨネネ病の病性と診断 - (2020)

[2] Yukko TANGUCHI., *et al.* : The association between detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* DNA in feces and histopathological classification. The Journal of Veterinary Medical Science, 82(5), 541-545(2020)

9.管内繁殖牛飼養農場において確認された胆管癌の症例報告

八重山家畜保健衛生所
 松本 航平 泉 里奈
 高桑 悠子
 家畜衛生試験場
 奥村 尚子

【はじめに】胆管癌は胆管上皮細胞由来の悪性腫瘍で、悪性腫瘍は一般的に加齢により発生率が上昇する疾病である。牛は繁殖母牛でも多くは10歳齢前後で廃用となり、牛本来の寿命に対して若齢の内に処理されるため、悪性腫瘍の発生率は低い。また、胆管癌は特徴的な臨床症状が認められないことがあり、十分な検査が行われず、と畜検査時に確認される例などが多く、詳細な報告が少ない疾病です。今回、八重山管内の肉用牛繁殖農場において母牛での胆管癌の症例が確認されたため、報告する。

【発生農場及び概要】発生農場は管内の肉用牛繁殖農場で、母牛70頭規模の農場。患畜は2012年9月22日生まれの8歳8ヶ月齢の黒毛和種の母牛で、2021年5月2日に活力低下などの症状が見られたため、診療獣医師による治療が行われた。6月1日に4度の発熱、粘膜に黄疸が現れ、便と尿がそれぞれ茶色・濃い橙色に変化し、6月8日に家保に血液検査依頼があった。6月11日に診療獣医師が予後不良と判断し、原因究明のため、家保に解剖検査の依頼があり、同日、鑑定殺後に、解剖検査を実施した(図1)。

発生農場	
・肉用牛繁殖農場	
・飼養規模：母牛70頭、育成牛53頭、子牛8頭(合計131頭)	
発生概要	
患畜：黒毛和種	2012.9.22生(8歳8ヶ月) 雌
2021年5月27日	初診 T 38.7、活力低下、ルーメン動弱、軟便、子宮肥厚・波動感無し
5月31日	T 40.0、呼吸促進
6月1日	T 41.2、食欲廃絶、粘膜黄疸、茶色軟便、橙色濃尿
6月8日	家保に血液検査依頼
6月11日	予後不良と判断し、家保にて鑑定殺後に解剖検査実施

図1

【検査内容】(1)血液・生化学検査、(2)解剖検査を実施し、採材した主要6臓器について(3)細菌学的検査を実施し、(4)病理組織検査を実施した。

【検査結果】(1)血液・生化学検査(図2)血液検査の結果では白血球数の増加と血小板数の減少が確認され、血液生化学検査ではGOT、GGT、T-Bil、LDH、BUN、CRE、F及びMgの増加とALB、GLU、T-CHOの低下が確認された。診療獣医師による尿検査ではビリルビンが確認された。血液・生化学検査の結果からは全体的に肝臓の異常を疑う所見が多く見られた。

(1) 血液・生化学検査						
(明 日実施)						
項目	単位	値	正常値			
【血液生化学検査】						
GGT	U/L	> 1200	12~ 19			
T-Bil	mg/dL	5.8	0.2~ 0.4			
LDH	U/L	7642	1500~ 2500			
BUN	mg/dL	69.5	10~ 20			
CRE	mg/dL	6.59	1~ 2			
TP	g/dL	7.6	6.6~ 7.6			
ALB	g/dL	2.6	3.2~ 3.8			
GLU	mg/dL	7	45~ 75			
T-CHO	mg/dL	68	80~ 300			
Ca	mg/dL	10.1	8.5~ 12			
P	mg/dL	9.2	4~ 8			
Mg	mg/dL	4.1	1.8~ 3.2			
尿検査 (明日実施)						
項目	pH	潜血	ケトン	ビリルビン	蛋白質	糖
値	8.5	-	-	+++	-	-

図2

(2)剖検所見 皮下・筋肉では全身性の黄疸、水腫様変性が認められ、腹腔は腹膜炎により肝臓・腹腔壁との強固な癒着が認められ、腹腔内には黄色の腹水が貯留していることが確認された(図3)。



図3

肝臓は、全体に多数の白色腫瘍が確認され、腫大し、最長で73cmとなっていた。また、肝臓の辺縁では一

部退色が確認された。胆管では胆管内に直径 8 cm 大の腫瘤が確認された (図 4)。

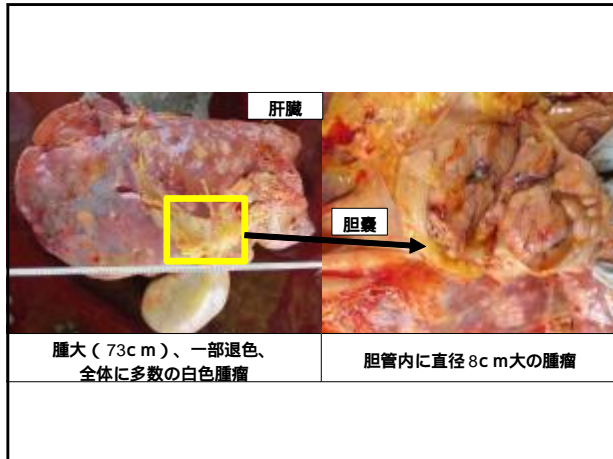


図 4

肝臓の断面は全体が赤褐色で、胆管から肝実質まで広範囲に多数の白色腫瘤が認められた。胆嚢では粘膜面に多数のイボ状腫瘤が認められた (図 5)。

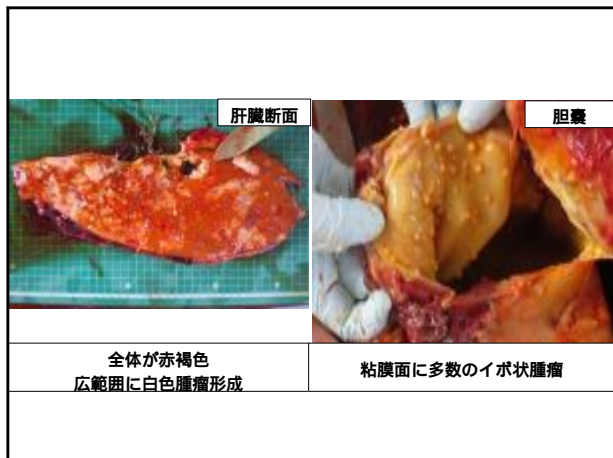


図 5

肺門リンパ節は 16cm 大に腫大し、内部に腫瘤が形成されていた。肺は左右の前葉から中葉にかけて充血が



図 6

認められた。脾臓の断面は暗赤色であった。腸間膜リンパ節は 3から 5cm に腫大していた (図 6)。

(3)細菌学的検査では肺から *Pantoea* spp 1, *E.coli* 1, *Aerococcus viridans* 1, *Pseudomonas putida*、肝から *E.coli* 1, *E.coli* 2 が分離された。その他の臓器では有意菌は分離されなかった。病理所見で肝臓や肺に化膿性病変に乏しい所見が得られていることから、今回の症例では細菌は病変の形成に関与しておらず、消化管からの流入や免疫力低下による日和見感染をおこしたものと推察した。

(4)病理組織検査は脳、心、肺、肺門リンパ節、肝臓、胆嚢、脾臓、前胃、腺胃、小腸、腸間膜リンパ節、盲腸、膀胱を材料とし、ヘマトキシリン・エオジン染色と免疫組織化学染色として抗ケラチン/サイトケラチン抗体染色 (以下 AE 1, AE 3) を実施した (図 7)。

(4) 病理組織検査

材料：脳 心 肺 (右前 左前 左後) 肺門 Ly 肝 胆嚢 胆嚢内腫瘤 脾、前胃 腺胃 小腸 腸間膜 Ly 盲腸 膀胱

染色：ヘマトキシリン・エオジン染色 (HE)

免疫組織化学染色：抗ケラチン/サイトケラチン抗体 (AE1/AE3) 上皮細胞を特異的に染色

図 7

肝臓の低倍率像では腫瘍細胞の結合組織を伴う浸潤増殖像が確認され、肝臓構造残存部では肝細胞は確認されるが肝小葉の構造が不明瞭であった (図 8)。

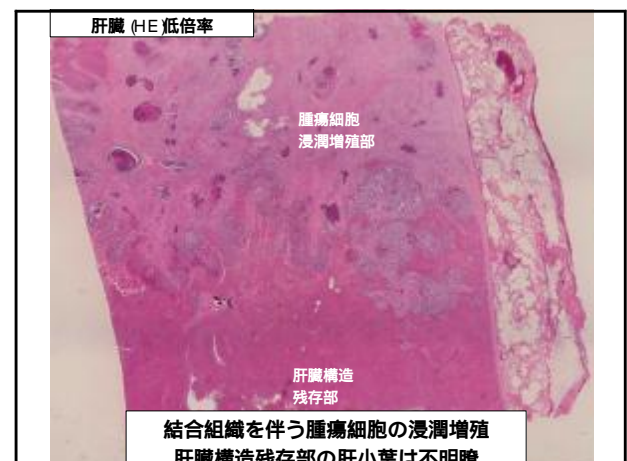


図 8

肝臓の腫瘍細胞浸潤増殖部と肝臓構造残存部の境界面の中倍率像では、腫瘍細胞が豊富な結合組織を伴いながら管腔形成状・乳頭状・巣状に浸潤増殖しており、一部で出血・壊死像が認められた (図 9)。

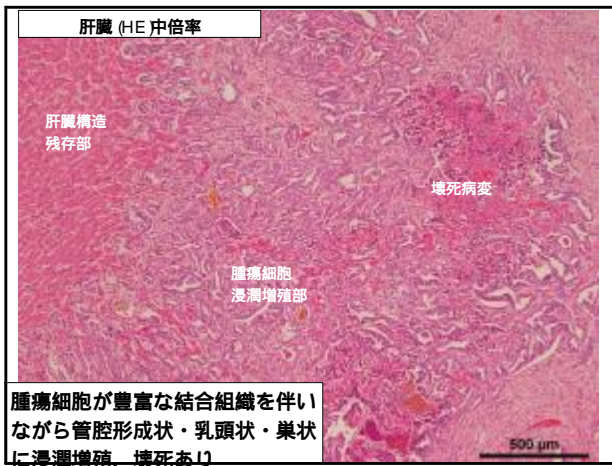


図 9

肝臓の腫瘍細胞増殖部の高倍率像では、腫瘍細胞が円柱形から立方体で、核の大小不同があり複数の核小体を保有し、1視野で3つの有糸分裂像が確認され、高い有糸分裂活性があることが確認された(図 10)。



図 10

この他、肝臓全体で胆汁のうっ滞が確認されました。このことから、肝細胞から胆汁が細胆管へ運ばれていないことが確認された(図 11)。

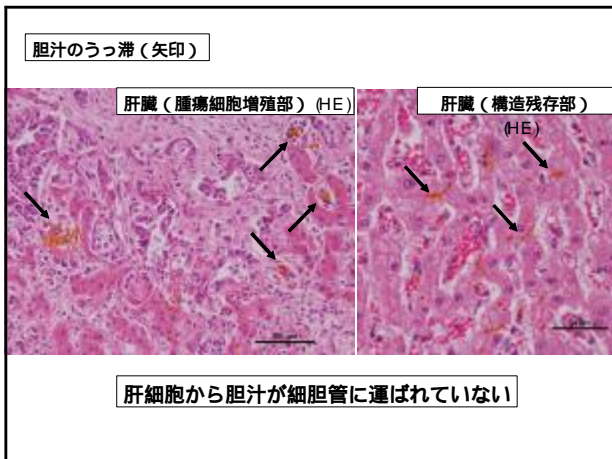


図 11

AE 1,AE 3で染色した肝臓構造残存部の標本で、グリ

ソン鞘において、3つ組構造以外に多数の管腔が形成されていることから、細胆管反応による胆管の増生が確認された。このことから、残存部においても腫瘍による影響が及んでおり、正常に機能していないことが確認された(図 12)。



図 12

AE 1,AE 3で染色した腫瘍細胞増殖部の標本では腫瘍細胞がサイトケラチン陽性であることが確認され、腫瘍細胞が上皮細胞由来であることが確認されました(図 13)。

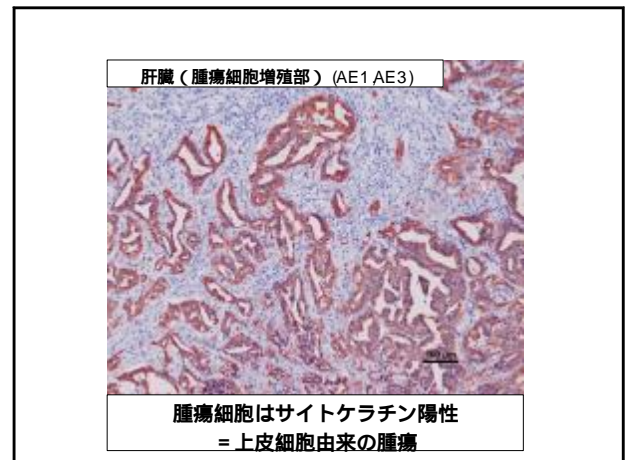


図 13

肺門リンパ節の標本でも肝臓と同様に、腫瘍細胞が管腔形成状・乳頭状・巣状に結合組織を伴い浸潤増殖し、一部で壊死・出血像が認められた。また、AE1,AE

3染色標本で腫瘍細胞が上皮細胞由来であることが確認された(図14)。

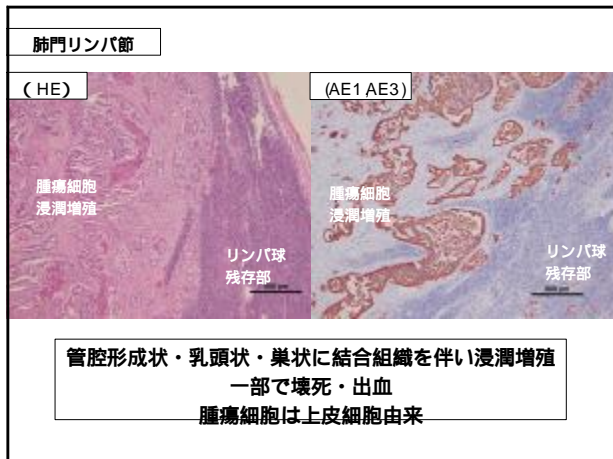


図14

中脳の標本では、リボフスチンの沈着が認められた。その他の臓器については、肺に転移巣が認められ、脾臓・第3胃の漿膜面に腫瘍細胞が認められた。これらの腫瘍細胞についてもAE1, AE3で上皮細胞由来腫瘍細胞であることが確認された(図15)。

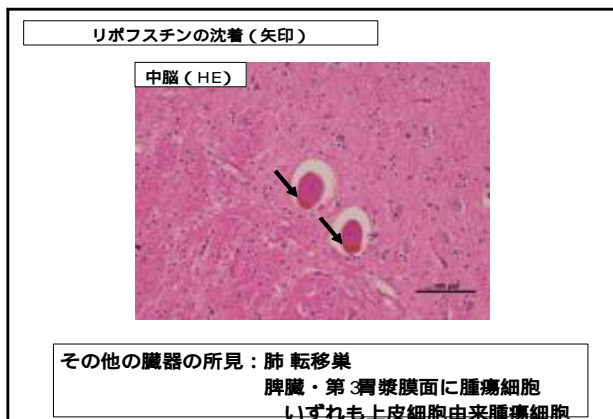


図15

【まとめ】病理組織検査で確認された腫瘍について、悪性度の判定を行い、豊富な結合組織を伴い浸潤増殖をしている点、腫瘍細胞の細胞異型が中程度である点、構造異型が高い点、壊死・出血像が見られる点、有糸分裂活性が高い点、肺・肺門リンパ節などに転移が見られる点から、悪性度は高いと判断し、肝臓原発の腺上皮細胞由来の腫瘍、胆管癌と診断した(図16)。

まとめ

病理所見

- 腫瘍細胞は腺上皮細胞由来
- 豊富な結合組織を伴い浸潤増殖
- 腫瘍細胞は円柱形～立方体で、核の大小不同、複数の核小体(細胞異型中程度)
- 管腔形成状、乳頭状、巣状に増殖(構造異型高)
- 増殖部内部で壊死や出血
- 有糸分裂像が400倍視野で3つ確認(有糸分裂活性高)
- 肝臓以外に腫瘍細胞が転移

悪性度が高い腺上皮細胞由来の腫瘍

胆管癌と診断

図16

【考察】今回、8歳8ヶ月齢の母牛について、胆管癌と診断をした。過去の胆管癌の症例では、黄疸が認められた症例は少なく、黄疸が認められた症例でも、総胆管起始部付近の肝実質に形成された腫瘤による総胆管の外部圧迫による黄疸と推察された症例であった。一方で、本症例では、黄疸が認められると共に、総胆管の内腔に腫瘍が形成されているという特徴が認められた。黄疸には発生機序により溶血性・肝細胞性・閉塞性の3種類の黄疸があるが、本症例では病理組織検査の結果から、腫瘤による閉塞性黄疸と肝小葉の構造が崩壊したことによる肝細胞性黄疸の2種類が同時に発生しているものと推察された。また、完全閉塞により胆汁が腸管内に出されていない場合、便の色調は薄くなるが、本症例では茶色の便が確認されていることから、胆汁の一部が腸管内に流出していたと考えられ、腫瘤による閉塞は不完全であったと推察された(図17)。

考察

- 本症例の特徴：黄疸が認められ、総胆管内部に腫瘤を形成
過去の症例報告では黄疸が認められた事例は少なく、黄疸が認められた事例は、肝実質内の腫瘤による総胆管の圧迫による閉塞性黄疸の症例
- 総胆管の内部に腫瘤があり、肝小葉構造は不明瞭
閉塞性黄疸と肝細胞性黄疸が同時に発生
- 完全閉塞による黄疸では便は薄くなるが本症例は茶色
胆汁の一部は腸管内に流出しており、腫瘤による閉塞は不完全

図17

肺や肺門リンパ節・脾臓・第3胃など肝臓以外の臓器においても腫瘍細胞が認められたことから、これらは転移したものと推察された。胆管癌の転移の好発部位は肝実質内、リンパ節、腹膜、肺に転移しやすいとの報

告があり 今回の症例でも、肺とリンパ節は実質内に腫瘍細胞があり、脾臓と第3胃は漿膜面に存在していることから、腹膜からの播種であると考えられ、報告と同様に好発部位での転移であったことが確認された。中脳で確認されたりポフスチンの沈着については、肝機能の長期にわたる機能低下で認められる消耗性色素の沈着であることから、症状が認められる以前から胆管癌により肝機能の低下が継続していたことが推察された。今回の症例は、黄疸や総胆管内部に腫瘤が形成されるなど特徴的な所見が多く見られたが、発生時期や胆石・胆管炎などのその他の疾病が関与しているのかなど不明な点が多く、今後も知見を重ねていく必要があると考える。また、黄疸が見られた場合、多くは肝炎やレプトスピラ症などの疾患を疑い治療を行うが、今後は発生数は少ないが胆管癌などの腫瘍性の可能性についても考慮し、鑑別を行う必要があると考える(図18)。

考察

- 肺門リンパ節・肺・脾臓・第3胃に腫瘍細胞が転移
胆管癌の転移好発部位
- 中脳でリポフスチン(消耗性色素)沈着が認められた
長期にわたり胆管癌により肝機能が低下したことで出現
- 黄疸が認められる際には、胆管癌など腫瘍による可能性を考慮する必要がある

図 18

1 Q 豚熱発生時に摘発された BVDV 持続感染を疑う豚の一症例

家畜衛生試験場

銘苅 裕二 石井 圭子 ほか

中央家畜保健衛生所

荒木 美穂

八重山家畜保健衛生所

高木和香子

【はじめに】

牛ウイルス性下痢(BVD)は牛ウイルス性下痢ウイルス(BVDV)により感染し、豚熱ウイルス(CSFV)と同じフラビウイルス科ペスチウイルス属のウイルスで、BVDV1~3型の3つの遺伝子型に大きく分類される。さらにBVDV1型は少なくとも20の亜型に分類される。牛に感染すると急性感染では一過性の発熱や下痢、呼吸器症状、流死産などの症状を示し、持続感染牛(PI牛)では発育不良や慢性下痢、肺炎などに罹患しやすいという特徴がある。一方、豚に感染するとほとんどの個体が不顕性感染を起こし、妊娠豚では繁殖障害を起こす。牛ではBVDVに対して免疫寛容となるため抗体が産生されず、ウイルスの排泄が一生涯続くPI牛が問題となっているが、豚での報告はない。

また、BVDVはCSFVと同じペスチウイルス属であるため、抗体検査(ELISA、中和試験)や抗原検査(FAやペスチウイルスRT-PCR)で交差反応を示す。ペスチウイルスRT-PCRではBVDVとCSFVの両方を検出するため、陽性の場合には制限酵素 *Bgl*I や *Pst*I を用いたRFLP法により識別するが、最終的に確定する場合は遺伝子解析が必要となる(図1)。

2020年1月、本県で豚熱(CSF)が発生し、特定家畜伝染病防疫指針に基づき沖縄本島中部地域の10戸12,381頭が防疫措置対象となった発生状況確認検査が発生農場から半径10km圏内で実施される中、BVDV持続感染を疑う豚が摘発されたので、その症例を報告する。

【農場概要および発生状況】

当該農場はうるま市に位置する一貫経営の養豚場で、飼養頭数は155頭(種雌豚35頭、種雄豚20頭、子豚50頭、肥育豚50頭)である。1月13日にCSF発生状況確認検査を実施したところ、30頭中3頭のELISA陽性を確認したが、遺伝子検査は全て陰性だった。1月16日にELISA検査陽性に伴う再立入再検査(病性鑑定①)を実施したが、発熱、呼吸器症状、重度の発育不



図1 CSFとBVDの検査フロー

農場概要および発生状況	
【当該農場】	沖縄県うるま市一貫経営の養豚場
【飼養頭数】	155頭(種雌豚35頭 種雄豚20頭 子豚50頭 肥育豚50頭)
【発生状況】	
1月13日	CSF発生状況確認検査 血液を採材(30頭) CSF-ELISA(+)3頭を確認
1月16日	CSF-ELISA(+)に伴う再立入 血液を採材(26頭) 病性鑑定① 異常豚(80日齢)確認→発熱、呼吸促進、重度の発育不良
1月17日	病性鑑定①の結果を受けて再立入 血液を採材(30頭) 病性鑑定② 異常豚(80日齢)2頭解剖

図2 農場概要および発生状況

良等を示す80日齢の異常豚を確認したので、詳細な検査を行うため1月17日に異常豚2頭の解剖と同居豚について病性鑑定を実施した(図2)。

【病性鑑定 材料および方法】

26頭のEDTA加血液と血清を用いて以下に示すおりの方法で各種検査を行った。

- 1.白血球数測定(1万個/μℓ以下を陽性) EDTA加血液を用いて実施した。
- 2.遺伝子検査 血清を用いてペスチウイルスRT-PCRを実施した。陽性の場合、制限酵素 *Bgl*I を用いてRFLP法を実施した。

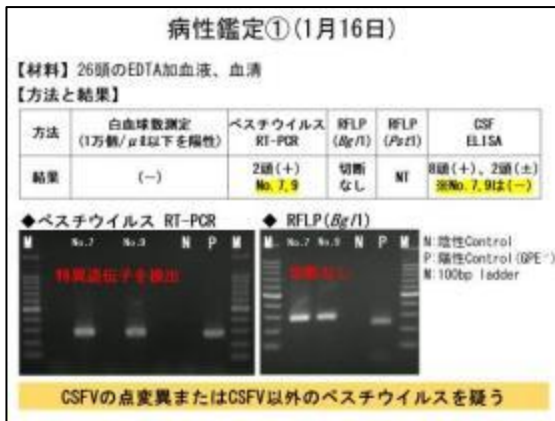


図3 病性鑑定 の材料、方法および結果



図4 病性鑑定 の材料、方法および結果

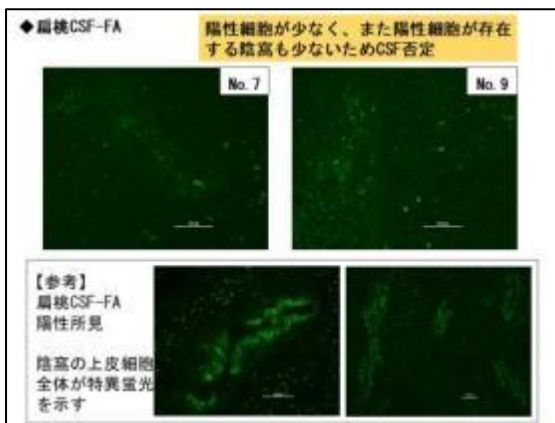


図5 病性鑑定 の扁桃 CSF-FA 結果

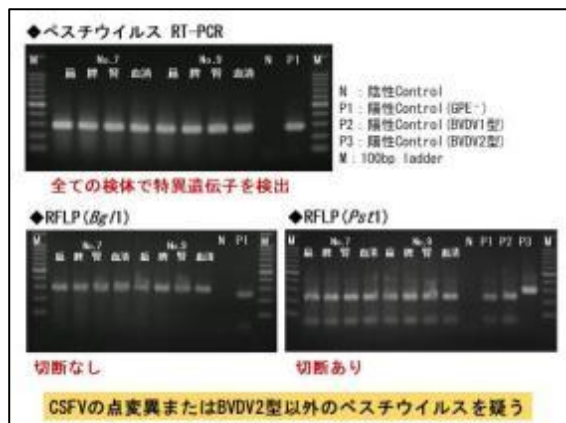


図6 病性鑑定 の遺伝子検査結果

3.抗体検査 :血清を用いてCSF-ELISA を実施した。

【病性鑑定 結果】

- 白血球数測定 :全て陰性であった。
- 遺伝子検査 :発育不良の個体 No.7 とNo.9 の EDTA 加血液からペステウイルス遺伝子を検出したが、RFLP 法では切断されなかった。
- 抗体検査 :8 頭の陽性および2 頭の疑陽性が確認されたが、個体No.7 とNo.9 は陰性であった(図3)。

【病性鑑定 材料および方法】

病性鑑定 でペステウイルス遺伝子を検出した2 頭を解剖に供し、得られた材料と同居豚30 頭の EDTA 加血液および血清を用いて以下に示すとりの方法で各種検査を行った。

- 白血球数測定(1 万個/ μ l 以下を陽性) :同居豚の EDTA 加血液を用いて実施した。
- FA 検査 :解剖豚2 頭の扁桃を用いてCSFV の FA を実施した。
- 遺伝子検査 :解剖豚2 頭の扁桃、脾臓、腎臓、血清(病性鑑定 で採材)、同居豚の血清を用いてペステウイルス陽性の場合、制限酵素*Bgl*I および*Pst*I を用いてRFLP 法を実施した。

4.抗体検査 :同居豚の血清を用いてCSF-ELISA を実施した。

5.病理学的検査 :解剖豚2 頭について定法に従って実施した。

【病性鑑定 結果】

- 白血球数測定 :1 頭陽性であった。
- FA 検査 :陽性細胞が散見されたがCSF は否定的であった(図5)。
- 遺伝子検査 :解剖豚2 頭の扁桃、脾臓、腎臓血清からペステウイルス遺伝子を検出し、RFLP 法は*Bgl*I で切断されず、*Pst*I で切断された。また、同居豚の血清からペステウイルス遺伝子は検出されなかった(図6)。
- 抗体検査 :3 頭の陽性が確認された。
- 病理学的検査 :解剖豚2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髓外造血、扁桃の陰窩膿瘍、免疫組織化学的染色(IHC)で肺胞腔内マクロファージがPRRSV 陽性であった(図7)。

【遺伝子解析 材料および方法】

解剖豚2 頭の扁桃由来 RNA を用いて、ペステウイルス5'UT 領域を標的とした RT-PCR 法およびダイ

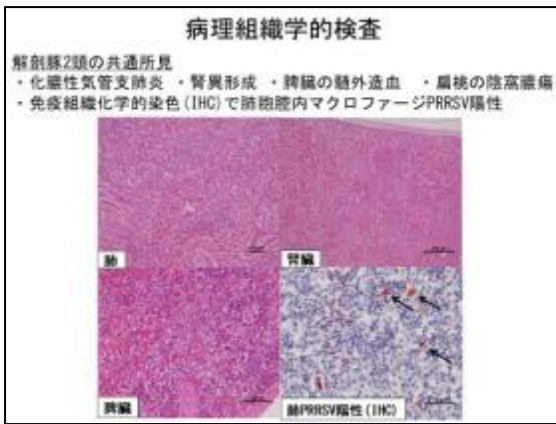


図7 病鑑 の病理組織学的検査結果

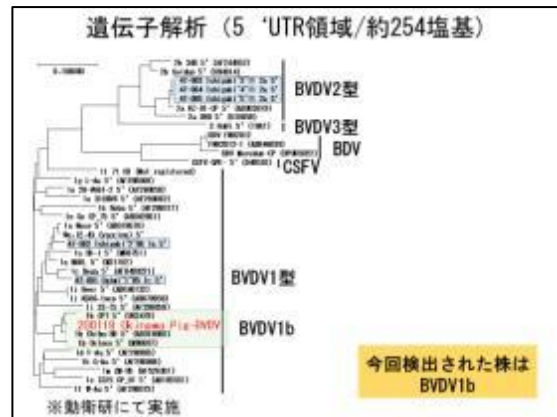


図8 遺伝子解析結果

CSFおよびBVD中和試験

血清No.	ベスタ FOR	ELISA 抗体価	中和 価	検出抗体価 1倍 2倍		
発生状況 確認検査	2	-	+	2	64	4
	23	-	+	<2	64	4
	24	-	+	4	256	8
	1	-	+	<2	16	4
	2	-	+	<2	16	<2
	3	-	±	<2	16	4
	4	-	+	<2	2	<2
	5	-	±	<2	4	<2
	7	+	+	<2	<2	<2
慢性感染① (1月16日)	8	-	+	<2	256	32
	9	+	+	<2	<2	<2
	10	-	+	<2	256	8
	11	-	+	<2	512	4
	12	-	+	2	256	16
	19	-	+	2	64	4
慢性感染② (1月17日)	12	-	+	8	256	16
	17	-	+	2	256	32
	18	-	+	4	512	32

【材料】発生状況確認検査や病性鑑定でELISA(+)または(±)の血清(計16頭)と解剖豚2頭の血清

【結果】解剖豚2頭の血清(No. 7, 9)はBVDV抗体(-)
同居豚はBVDV抗体を保有し、1型の方が高値(2~512倍)

本事例はBVDV1型持続感染疑いと診断
(2週間後の検査未実施なので疑い)

同一豚場内で飼養

図9 CSF および BVD 中和試験

BVD関連農場(牛)の疫学調査

【調査時期】2021年12月

【対象農場の概要】
・牛12頭(母牛8頭、育成牛2頭、子牛2頭)を飼養する肉用牛繁殖農場
・豚のBVD発生農場に隣接し、飼養者は過去に農場間の往来あり
・母牛はBVDワクチン未接種
・数年前に母牛1頭を廃用

血清No.	BVDV抗体価 1倍 2倍
1	1024 64
2	<2 <2
3	8096 ± 16
4	<2 <2
5	<2 <2
6	1024 32
7	<2 <2
8	<2 <2

【材料】母牛8頭の血清

【方法】ベステチウイルスRT-PCR
BVDVの中和試験

【結果】ベステチウイルスRT-PCR(-)
3頭が抗体保有

現在は感染個体やPI牛はいないが、過去に農場へBVDVが侵入
・廃用牛がPI牛かどうかは不明

図10 BVD 関連農場(牛)の疫学調査

レクトシーケンス法により遺伝子解析を実施した。

【遺伝子解析 結果】

ベステチウイルス5'UTRの部分配列(約254bp)について系統樹解析を実施した結果、BVDV1-b であることが判明した(図8)。

【CSF およびBVDV の中和試験】

発生状況確認検査や病性鑑定、でCSF-ELISA陽性または疑陽性の血清16検体と解剖豚の血清2検体を用いてCSFVおよびBVDVの中和試験を実施したところ、解剖豚の血清はBVDV抗体陰性であった。また、その他の同居豚はBVDV抗体を保有し、中和抗体価はBVDV1型が高値であった(図9)。

【BVDV 関連農場(牛)の疫学調査】

対象農場は牛12頭(母牛8頭、育成牛2頭、子牛2頭)を飼養する肉用牛繁殖農場で、豚のBVD発生農場に隣接し、飼養者は過去に農場間の往来があった。また、母牛へのBVDVワクチンは未接種であり、数年前に母牛1頭を廃用している。BVDVの抗原および抗体検査成績を調査するために、母牛8頭の血清を用いてベステチウイルスRT-PCRおよびBVDVの中和試験を実施した。その結果、ベステチウイルス遺伝子は検出されな

沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況調査

【調査時期】2020年1~4月

【材料】血清66検体(18戸)
CSF発生時に採材した7,302検体(104戸)のうちCSF-ELISA(+)または(±)を示したものを
※最終的にCSFは否定

【方法】BVDVの中和試験

【結果】40検体(4戸)が抗体保有(抗体保有率0.9%)
BVDV1型:2~1024倍(GM値69.8)
BVDV2型:2倍未満~64倍(GM値6.8)

県内の一部の養豚場においてもBVDVが浸潤していることを確認

図11 沖縄本島の豚におけるBVDV 浸潤状況調査

ったが3頭がBVDV抗体を保有していた(図10)。

【沖縄本島の豚におけるBVDV 浸潤状況調査】

沖縄本島の豚におけるBVDV浸潤状況を把握するために、CSF発生に伴い採材した血清7,302検体の内、ELISA陽性および疑陽性を示しCSFが否定された66検体についてBVDVの中和試験を実施した。その結果、40検体でBVDV抗体の保有が確認された(図11)。

【まとめと考察】

解剖豚の血清、扁桃、脾臓、腎臓からペスチウイルス遺伝子を検出し、遺伝子解析の結果、BVDV-1b だと判明した。また、解剖豚は BVDV 遺伝子陽性および抗体陰性のため、BVDV1 型持続感染疑いと診断した。同居豚は BVDV 遺伝子陰性であるが抗体を保有していたことから、解剖豚がウイルスを持続的に排出し、豚群が感染したと考えられた。

病理学的検査結果より、解剖豚 2 頭の共通所見として、化膿性気管支肺炎、腎異形成、脾臓の髄外造血、扁桃の陰窩膿瘍、IHC で肺胞腔内マクロファージが PRRSV 陽性であることが確認されたが、BVDV 持続感染豚の報告は無いため、今回の結果が特徴的所見かは不明であった。

BVDV 関連農場の疫学調査では、当該農場に隣接した肉用牛繁殖農場は BVDV ワクチン未接種農場であるが、3 頭の母牛において BVDV 抗体を保有し、母牛全頭においてペスチウイルス遺伝子の検出がなかったことから、現在は農場に感染個体や PI 牛はいないが、過去に農場へ BVDV の侵入があったことが確認された。また、廃用した母牛が PI 牛かは不明であった。これらのことから、当該農場の関係者が牛を飼養し、過去に農場間の往来があったことが当該農場へのウイルス侵入の一因と推察された。

病性鑑定および浸潤状況調査より、県内の養豚場で BVDV の侵入が確認されていることから、今後も CSF 検査時は BVDV 感染の可能性も念頭におき鑑別することが重要である(図 12)。

まとめと考察	
■	解剖豚の血清・扁桃・脾臓・腎臓からペスチウイルス遺伝子を検出し、遺伝子解析の結果、BVDV1b と判明
■	解剖豚は BVDV 遺伝子 (+) ・抗体 (-) → BVDV1 型持続感染疑いと診断
■	同居豚は BVDV 遺伝子 (-) ・抗体 (+) → 解剖豚がウイルスを持続的に排出し豚群に感染したと推察
■	BVDV 持続感染豚の病態については報告がなく、今回の病理所見が特徴的なのか不明
■	当該農場の関係者が牛を飼養しており、過去の農場間の往来がウイルス侵入の一因と推察
■	病性鑑定および浸潤状況調査より県内の養豚場で BVDV 侵入を確認 → CSF 検査時は BVDV 感染の可能性も念頭におき鑑別が重要

図 12 まとめと考察

11.複数の採卵鶏農場で発生した尿石症

中家畜保健衛生所
荒木 美穂
家畜衛生試験場
渡嘉敷 美波

鶏の尿石症は、尿酸塩などを含む結石が尿管や腎臓に貯留する疾病で、一般に成鶏で多く認められる。発症鶏群では死亡率が増加し、産卵率の低下がみられる。原因はさまざまで、多病因性の疾病とされ、飼料中の過剰なカルシウムや蛋白質、ビタミンA欠乏症、重炭酸ナトリウムによる治療、マイコトキシン、また感染性の要因では腎病原性の伝染性気管支炎 (B)が原因となることもある。

今回、複数の採卵鶏農場で尿石症が発生し、病性鑑定を実施したのでその概要を報告する。

【発生概要】

令和2年2月頃から当家保管内の3農場で、同時期に同様の発生があった。稟告は成鶏舎に移動後150日齢頃から死亡羽数が増加、特にジュリアライトで顕著に増加することであった。発症鶏の症状は、発育不良、鶏冠が小さく退色、活力低下し斃死するというものであった。

発生農場の概要と検査状況について表1に示す。3農場A、B、Cの合計9ロット62羽について、病性鑑定を実施した。3農場とも雛の導入元が同じであり育成用及び成鶏用飼料は同一のものを給与していた。

表1

発生概要：各農場の検査状況

農場	鶏種*	飼養羽数	日齢	検体数	備考
A	JR	成鶏34,000	176	死体21生体4	BBでは死亡増加なし
	BB	育成12,500	132	死体5	
B	JR	成鶏28,000	292,391	死体3生体5	BBでは死亡増加なし
	BB	育成5,000	214,314	死体3生体5	
C	JR	成鶏23,000	314	死体1生体1	
		育成5,000	265	死体1生体1	
	BB		209	死体1生体1	
			146	生体5	
		90	生体5		

雛導入元、育成用及び成鶏用飼料ともすべて同

*JR：ジュリアライト BB：ボリスブラウン

対照として、発生農場と同一の飼料を給与していた3農場D、E、F、及び別の飼料を給与していた2農場G、Hについて、同様に病性鑑定を実施した。農場Dは成鶏用のみ別の飼料、農場E、Fは中すう用を給与した後、大すう用は給与せず成鶏用飼料へ移行していた。

(表2)

表2

対照農場：参考検査

農場	鶏種	飼養羽数	日齢	検体数	給与飼料		
					幼生雛用	大雛用	成鶏用
D	JR	成鶏55,000	401	死体3	●	●	●
	BB	育成18,000			●	●	●
E	JR	成鶏8,000	217	死体3	●	●	●
		育成3,000			●	●	●
F	JR	成鶏7,000	260	生体2	●	●	●
		育成3,000			400	死体1	●
G	JR	成鶏70,000	191	生体2	●	●	●
		育成20,000	244	生体2	●	●	●
			307	生体2	●	●	●
H	JR	成鶏95,000	401	死体3	●	●	●

【材料と方法】

1. 病理解剖 死体及び生体について体重測定、病理解剖を行い、尿石の有無について確認した。
2. ウイルス及び細菌検査 腎臓、気管のBV RT-PCR 70日齢育成鶏のBV抗体検査を実施した。また解剖鶏の主要臓器について、羊血液寒天培地で37℃、好気培養を行った。
3. 病理組織検査 定法に基づきヘマトキシリンエオジン染色を実施し、一部検体の腎、気管及び卵管について抗BV抗体による免疫組織化学的染色を実施した。
4. 生化学検査 血清の生化学検査はドライケミストリー法により実施した。また結石の成分同定はHawk-Oser-Summerson法の齋藤変法により実施した。
5. 聞き取り調査 給与飼料などの飼養状況、死亡羽数の推移について実施した。(表3)

表 3

材料と方法

1. 病理解剖 死体・生体（発症鶏）
体重測定、尿石の有無について確認
2. ウイルス及び細菌検査 IBV RT-PCR(primer:IBV-S1/IBV-S2)/腎、気管
育成鶏（70日齢）IBV抗体検査（中和）
細菌分離培養（血液寒天培地、好気、1day）/主要6臓器
3. 病理組織検査 ヘマトキシリンエオジン染色
一部で免疫組織化学的染色（抗IBV抗体）/腎、気管、卵管
4. 生化学検査 ドライケミストリー法/血清
Hawk-Oser-Summerson法の齋藤変法/生材結石
5. 聞き取り調査 給与飼料など飼養状況、死亡羽数

【結果】

1. 病理解剖 (図 1) 死体及び生体の多くの個体で、尿管の拡張、尿管内の結石・塞栓、腎臓の萎縮・消失または代償性腫大がみられ、卵巣は未発達であった。一部の個体では肝臓や腸間膜、心臓への石灰沈着がみられた。



図 1

発生農場 3戸では62羽中53羽、同一飼料給与農場 3戸では 9羽中 8羽で尿石症が確認された。一方、別飼料給与農場 2戸では、尿石症が確認されたのは 9羽中 1羽であった。また、発生農場及び同一飼料給与農場のほぼすべての個体で、日齢に応じた体重に発育しておらず、推奨体重を下回っていた。(図 2)

結果：1. 病理解剖

・尿結石を確認

発生農場3戸 53/62
同一飼料3戸 8/9
別飼料2戸 1/9

・削瘦、低体重

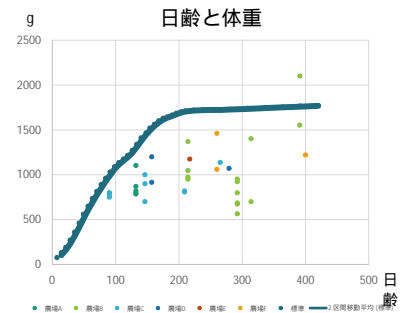


図 2

2. ウイルス及び細菌検査 ウイルス検査では、すべての農場で IBV RT-PCR陰性であった。農場 A、Cの70日齢育成鶏の IBV抗体検査では、抗体価は低値であり、野外感染は確認されなかった。また、細菌検査では、主要臓器から有意菌分離陰性であった。(表 4)

表 4

結果：2. ウイルス及び細菌検査

- ・IBV RT-PCR陰性
- ・IBV抗体検査(70日齢) (農場A,C)

50日齢までの野外感染なし

農場	日齢	IB			
		ON	C78	MI	S95
A	70	1.5	1.0	<0.5	<0.5
C	70	1.5	<0.5	<0.5	<0.5

(日生研実施)

- ・細菌検査 有意菌分離陰性

3. 病理組織検査 (図 2) (左上) 腎臓に針状結晶物が放射状に沈着する痛風結節がみられ、尿細管は拡張し管腔内に好酸性物質の貯留、間質への炎症細胞浸潤がみられた。(右上)尿管や集合管が拡張し、管腔内に結石が確認された。(左下)心臓では、心外膜の水腫、尿酸塩沈着がみられ、心筋間にリンパ球の浸潤がみられた。(右下)脾臓で痛風結節がみられた個体が少数確認された。

表 5に病理組織所見をまとめた。90日齢の育成鶏で尿細管上皮の変性、石灰沈着が確認された。また、抗 IBV抗体を用いた免疫組織化学的染色は陰性であった。

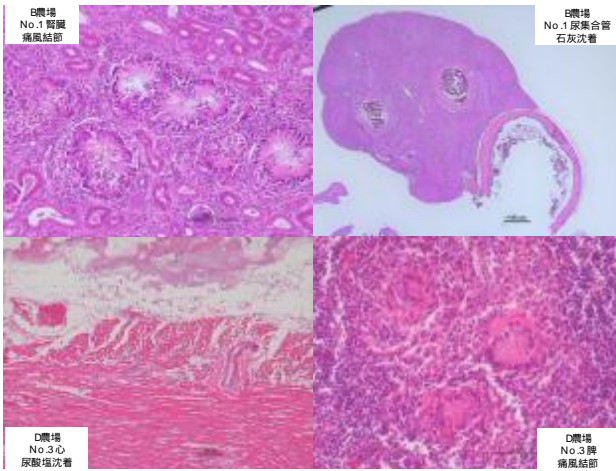


図 2

表 5

結果：3. 病理組織検査

- 腎尿細管、集合管、尿管腔内や上皮に好塩基性物や針状結晶物の沈着、炎症細胞浸潤
- 尿管径の拡張、尿管腔内に好酸性の泡沫状物の貯留、間質の線維化
- 糸球体の腫大
- 全身性尿酸塩沈着症（内臓痛風）
- 90日齢で尿管上皮の変性・石灰沈着
- 抗IBV抗体 免疫組織化学的染色
気管、腎臓、卵管など **陰性**

4. 生化学検査 血清生化学検査では、尿石症の際変動があるとされる、尿酸、カルシウム、リンを検査項目に選び、各農場各ロットの平均値を示した。(表6)

カルシウムとリンは概ね正常値の範囲内であったが、尿酸値で基準値を超える値が認められた(13.93~ 38.6 2mg/d以上)。

表 6

結果：4. 生化学検査

血清生化学検査 平均値：発症鶏

		UA	Ca	P	結石 (%)		
B	JR	5	214	38.62	14.3	5.7	100
		5	292	18.12	16.90	2.32	100
		3	90	4.47	10.23	6.27	0
	JR	3	146	13.93	12.17	3.97	67
		1	209	20	13.6	3.4	100
		1	265	10.6	13.7	1.5	100
C	1	314	20	20	3	100	
	2	90	3.05	10.9	7.2	0	
BB	2	146	4.1	12.15	3.8	0	
	F	JR	2	260	14.25	16.5	3.4

産卵期基準値* 3.71-8.1 14.61-37.0 3.2-11.78

* 鶏病研究会報52巻第4号

尿石成分の同定について、Hawk-Oser Summerson法齋藤変法により実施したところ、尿酸と判定した。しかしながら、同一検体について試験を繰り返し行ったところ、粉末の一部分について、フィブリンと判定され、尿路結石成分はフィブリンを含む尿酸と同定された。(表7)

表 7

結果：4. 生化学検査

Hawk-Oser Summerson法の齋藤変法



尿路結石成分は**フィブリン**を含む**尿酸**

5. 聞き取り調査 発生農場では死亡羽数が増加し始めた令和2年2月の3か月前、令和元年11月に給与飼料の設計変更があったことが判明した。その後、令和2年5月にも一度設計変更があった。表8は、幼すう用、中すう用、大すう用、成鶏前期用飼料の粗蛋白質(CP)含有率を示した。

平成29年5月設計の飼料と比較すると、令和元年11月の設計で大すう用のCP含量が14.5%から9.5%に減少していた。令和2年5月の設計でも11.0%であり、飼養管理ガイド等と比較すると、CPがかなり不足していると考えられた。

表 8

結果：5. 聞き取り調査

死亡羽数増加前に、給与飼料の設計変更

給与時期	CP (%)	給与飼料(%)	JR	BB	飼養標準	公定規格	
H29.5	R1.11	R2.5	ガイド*	ガイド*			
幼すう	19.5	19.0	19.0	20.0	18.3	19.0	18.5
中すう	16.0	16.0	16.0	18.5	17.5	16.0	15.5
大すう	14.5	9.5	11.0	14.5	16.0	13.0	12.5
成鶏前期	15.5	14.5	14.5	18.5	17.0	15.5	14.5
ブレイク				17.5	16.5		

* ゲンコーポレーション
ジュリアライト・ポリスブラウン 飼養管理ガイドより

そこで、令和2年5月設計の大すう用及び成鶏前期用飼料について飼料分析を行った。その結果、CPは大すう用で飼養標準の75%、成鶏前期用で飼養標準の95%と低値で、さらに当該飼料の表示票および公定規格より低いことが判明した。また、カルシウムは大すう用で飼養標準の180%、成鶏前期用で飼養標準の156%と高値であり、当該飼料の表示票および公定規格よりかなり高いことが判明した。(表9)

表9

給与飼料成分分析

R2年5月大すう用、成鶏前期用飼料について分析

飼料区分	成分名	表示票	分析値	飼養標準	公定規格
大すう用	粗蛋白質 (CP)	11.0	9.8	13.0	12.5
	Ca	0.75	1.08	0.60	0.55
	P	0.50	0.36	0.30	0.45
成鶏前期用	粗蛋白質 (CP)	14.5	13.6	15.5	14.5
	Ca	2.6	4.75	3.33	2.7
	P	0.4	0.47	0.30	0.5

(十勝農業協同組合連合会農産化学研究所実施)

CP: 飼養標準の75%、95% 表示票・公定規格より低い
 Ca: 飼養標準の180%、156% 表示票・公定規格よりかなり高い
 P: ほぼ適正值

次に各農場の死亡率について調査した(図3)。発生農場A、B、Cでは、低CP飼料給与ロットで死亡率が増加していた。給与飼料を変更した後のロット(標準飼料給与ロット)では通常の死亡率に戻っていた。また同一飼料を給与していた農場Dについても、聞き取り調査の結果、低CP飼料給与ロットで、特にジュリアライトの死亡率が増加していたことが判明した。

結果：5. 聞き取り調査

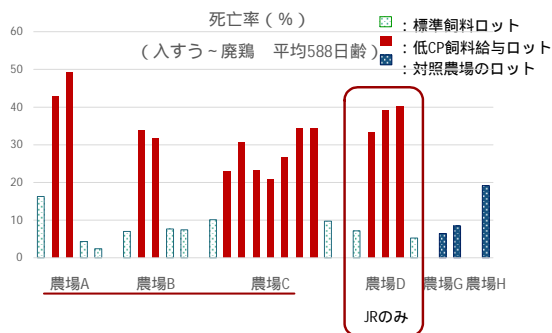


図3

6.追加調査 発生農場4戸(A、B、C、D)の発症ロット各1ロット、別飼料を給与する対照農場2戸(G、H)各1ロット、計6ロットについて、廃鶏出荷時に100羽ずつ病理解剖を実施し、尿石症の発生頻度を比較した。その結果、発症ロットのジュリアライトで結石陽性率が高く、ポリスブラウンでは低い陽性率であった。別飼料を給与していた対照農場G、Hでは陽性率は低く、発生農場と対照農場のジュリアライトでの結石陽性率は、発生農場で有意に高い結果となった(P値<0.05)。(表10)

表10

追加調査：廃鶏病理解剖

・発生農場及び対照農場の廃鶏 病理解剖

農場	鶏種	日齢	解剖羽数	結石陽性率(%)
A	JR	602	100	22
	BB	567	50	30
B	JR	560	50	0
	BB	560	50	10
C	JR	567	50	8
	BB	567	50	2
対照農場				
G	JR	647	100	3
H	So*	714	100	0

発生農場：対照農場(JR) 陽性率=18.4%：3% (P値<0.05) *So:ソニア

また、追加調査として、廃鶏出荷時の食鳥検査結果について調査した。尿石症と関連する項目として、炎症が原因で全部廃棄となった個体数を調査項目とした。

その結果、農場A、B、Cで炎症による全部廃棄の発生率が高くなっていった(図4)。炎症と判断された個体の中に、尿管拡張・尿管結石の個体が含まれており、星印のロットについては、食鳥検査員によりこれらの病変が確認されている。

追加調査：食鳥検査

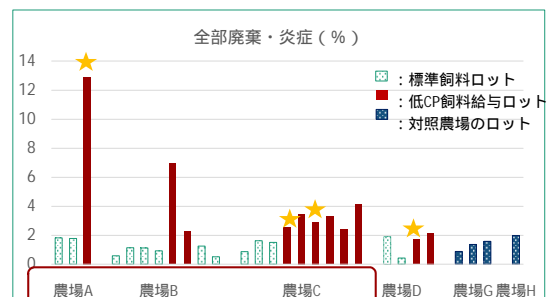


図4

【まとめ】

令和 2年 2月以降、同一飼料利用農場 4F で尿石症による死亡羽数が増加した。病性鑑定の結果、B等感染性要因は検出されなかった。一方、飼料の設計変更に伴い発生したことがわかり 飼料分析の結果、大すう用飼料のCPの不足、大すう用・成鶏用飼料のCaの過剰が確認された。発生鶏群は、産卵時まで死亡率が高く、尿石症が高率に確認された。

【考察】

鶏の尿石症は複数の要因で発生すると考えられる。本症例は飼料の設計変更による大すう用飼料中の粗蛋白質 (CP)の不足が要因となり 育成鶏の発育不良 繁殖機能が未発達なまま成鶏用飼料を給与開始 カルシウム過剰により尿石症を発症した、と考えられた。一方、大すう用飼料未給与の農場 E、Fでも尿石症が確認されたこと、90日齢の育成鶏で尿石症の前駆症状と思われる病変が確認されたことから、幼すう用・中すう用飼料も尿石症発生の要因になった可能性が考えられた。

今回の尿石症は、同一飼料を給与した北部家保管内の農場でも発生しており 飼料が要因となる大規模な発生となった。このような被害を予防し、発生時には早急な原因究明ができるよう 飼料安全法に基づく飼料の栄養成分に関する検査の必要性を再確認した。